



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO DE UMA NOVA TÉCNICA ATRAUMÁTICA PARA DIAGNÓSTICO DE *Demodex canis* E SUA COMPARAÇÃO COM TÉCNICAS JÁ UTILIZADAS

RITA MARIA SOUSA LOUSADA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço

ORIENTADOR

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier
Félix Lourenço

CO-ORIENTADOR

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

2014

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO DE UMA NOVA TÉCNICA ATRAUMÁTICA PARA DIAGNÓSTICO DE *Demodex canis* E SUA COMPARAÇÃO COM TÉCNICAS JÁ UTILIZADAS

RITA MARIA SOUSA LOUSADA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço

ORIENTADOR

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

Félix Lourenço

CO-ORIENTADOR

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

2014

LISBOA

*Aos meus pais, Teresa e Carlos,
por tudo o que fazem por nós.*

Agradecimentos

Cada uma destas pessoas, no seu papel, contribuiu de diferentes formas para o meu percurso pessoal e académico, assim como para a realização desta tese. Quero agradecer a todas com muito carinho, não serão esquecidas:

- Em primeiro lugar, à Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço, minha orientadora, pelo empenho e dedicação em tornar os seus alunos sempre melhores, por todos os ensinamentos transmitidos, incentivos, apoio e criatividade.
- À Professora Doutora Isabel Pereira da Fonseca, minha co-orientadora, pela disponibilidade e por toda a ajuda prestada.
- À Professora Doutora Graça Pires Melo pela simpatia e disponibilidade.
- À equipa da Azevet, Dr. Rui Lemos Ferreira e estagiária Inês Silva, por terem recolhido amostras para o meu trabalho.
- Ao Dr. Telmo Nunes e à Professora Doutora Isabel Neto pela preciosa ajuda na análise estatística.
- À Lúcia Sales por ter sido a minha companheira na dermatologia, pelo que me ensinou, por ter confiado em mim e por se ter importado comigo.
- To David Yates, Rachel Watkinson and all the RSPCA Greater Manchester Animal Hospital staff for all the valuable teachings, the patience and support, as well as to all the vet students that helped me to feel at home, thank you so much!
- A todo o pessoal do hospital escolar da FMV-UL, aos enfermeiros e auxiliares, médicos e recepcionistas, por toda a paciência, ensinamentos, carinho e dedicação. À Sofia Caldeira, Sandra Félix, Patrícia Capelas, Carla Silva, Rita Orêncio, Dra. Leonor Iglésias, Dra. Inês Marques, Dra. Ana Reisinho, Dr. Gonçalo Vicente, Dra. Carla Monteiro, entre muitos outros, obrigada por tudo o que me ensinaram.
- A todos os meus colegas de estágio, por toda a entreaajuda, partilha e companheirismo que fizeram com que o ambiente dos 6 meses de estágio fosse óptimo. Um obrigado especial à Ana, minha “rocha” naqueles momentos (“se não fosses tu!”), obrigada por todos os momentos, dos desabafos às gargalhadas.
- Às minhas amigas de sempre, Ana Rita, Margarida, Sara, Cátia e Mariana, obrigada por serem parte de mim e por estarem sempre perto.
- Ao Tiago, meu namorado e melhor amigo, por toda a paciência, por todas as esperas, por todos os desabafos, por todas as risadas e “coisas parvas”, obrigada por fazeres tudo para que a minha vida seja (muito) melhor.
- À minha família, por todo o apoio e amor, aos meus pais, por se terem esforçado para me oferecer a melhor educação, à Cristina e ao João, por serem uns tontos que eu adoro.
- À minha Ponitas, minha alma gémea felina.

Estudo de uma nova técnica atraumática para diagnóstico de *Demodex canis* e sua comparação com técnicas já utilizadas

Resumo

A demodicose canina (DC) é uma doença cutânea inflamatória parasitária, causada pela proliferação excessiva dos ácaros foliculares comensais do género *Demodex*. A demodicose localizada (DL) é uma forma benigna auto-limitante que não requer tratamento acaricida. Por outro lado, a demodicose generalizada (DG) pode ser grave e colocar a vida do paciente em risco. Geralmente a DC não é difícil de diagnosticar através dos métodos mais comuns (raspagens cutâneas profundas e/ou tricograma), no entanto, ainda são vários os casos que chegam às consultas de referência de dermatologia, quer por baixo índice de suspeita da doença, não se chegando a realizar a sua pesquisa, ou por falhas na realização dos métodos de diagnóstico. As raspagens profundas são o método de diagnóstico de eleição, embora este seja considerado traumatizante. O tricograma não apresenta esta desvantagem, porém, a sua sensibilidade é considerada mais baixa, variando desde 40 a 85% consoante os autores. Deste modo, seria útil encontrar um método de diagnóstico atraumático que mantivesse uma sensibilidade elevada. A sensibilidade do método da fita adesiva foi recentemente estudada, variando entre 75 a 100%, revelando-se assim um método interessante. O objectivo deste trabalho foi testar uma nova técnica para o diagnóstico de DC e sua monitorização após o início do tratamento, comparando-a ainda com os três métodos acima referidos.

Em doze cães positivos para DC foram utilizadas as bandas *Clear-up Strips* dos laboratórios NIVEA® em duas zonas corporais, juntamente com a realização das outras três técnicas de diagnóstico em zonas adjacentes. Estas bandas são utilizadas para o cuidado do rosto humano com o objectivo de remover os pontos negros e limpar os poros em profundidade. Assim, foi colocada a hipótese de que se estas bandas removessem o conteúdo folicular de cães com demodicose, poderiam ser observados ácaros ao microscópio, permitindo deste modo o diagnóstico de DC.

Este estudo comprovou esta hipótese, sendo o método das bandas NIVEA® a técnica atraumática que revelou uma maior sensibilidade no diagnóstico e na consulta de seguimento de DC, sendo apenas superada pelo método das raspagens profundas. Deste modo, conclui-se que este novo método estudado pode ser recomendado para o diagnóstico de DC, particularmente nos casos em que a realização das raspagens profundas é difícil ou dolorosa, como por exemplo nas zonas peri-oculares ou espaços interdigitais.

Palavras-chave: Demodicose, *Demodex*, cão, diagnóstico, métodos atraumáticos, NIVEA *Clear-up Strips*®

Study of a new atraumatic technique for *Demodex canis* diagnosis and its comparison with already used techniques

Abstract

Canine demodicosis (CD) is an inflammatory parasitic skin disease, characterized by excessive proliferation of the commensal follicular mite of the genus *Demodex*. Localized demodicosis (LD) is a benign self-limiting disease that does not require acaricide treatment. On the other hand, generalized demodicosis (GD) can be a serious and potentially life-threatening disease. Usually, the diagnosis of CD is easily made by the most common methods (deep skin scrapings or trichograms), however, there are still some cases that end up in the referral dermatologists, either due to low index of suspicion of the disease and therefore mites are not looked up, or failures in performing the diagnosis methods correctly. Deep skin scrapings are the golden standard technique for *Demodex* diagnosis, although this is considered to be a traumatizing method. Trichograms do not have this disadvantage but their sensitivity is considered to be lower (40 to 85% depending on the authors). Thus, it would be useful to find out a non-traumatizing diagnosis method that maintained a high sensitivity. The acetate tape impression sensitivity has been recently studied. It ranged from 75 to 100% depending on the authors, looking very promising as a diagnostic method. With the same purpose, a new technique for diagnosing and monitoring CD was tested in this study and was also compared with these three methods above-mentioned.

Clear-up Strips from NIVEA® laboratories were used in two body areas of twelve positive dogs for CD, along with the execution of the other diagnostic techniques in adjacent areas. These strips are a human face care product used to remove blackheads and cleanse the pores. It was hypothesized that if these strips were able to remove the follicular content of dogs with demodicosis, it could be possible to find mites on the microscope, thus allowing the CD diagnosis.

Through this study, this hypothesis has been confirmed. The NIVEA® strips method was the non-traumatizing technique that revealed a greater sensitivity for the CD diagnosis as well as in the first CD follow-up, being only surpassed by deep skin scrapings. Thus, it can be concluded that this new method can be recommended for CD diagnosis, especially when deep skin scrapings are too difficult or painful to perform, as in peri-ocular areas or interdigital skin.

Key words: Demodicosis, *Demodex*, dog, diagnosis, non-traumatic methods, NIVEA Clear-up Strips®

Índice Geral

I. Introdução e breve descrição das actividades desenvolvidas durante o estágio	1
II. Revisão Bibliográfica – Demodicose Canina	4
1. Etiologia.....	4
1.1. Taxonomia.....	5
1.2. Morfologia.....	5
2. Ciclo de vida	7
3. Transmissão	8
4. Patogénese	8
4.1. Influência genética.....	9
4.2. Influência imunitária.....	9
4.3. Outros factores predisponentes	12
5. Sinais clínicos	12
5.1. Demodicose localizada.....	12
5.2. Demodicose generalizada	13
5.3. Pododemodicose.....	15
5.4. Particularidades clínicas de <i>D. cornei</i> e <i>D. injai</i>	16
6. Diagnóstico.....	16
6.1. Raspagens cutâneas profundas	16
6.2. Tricograma	18
6.3. Biópsia de pele	18
6.4. Outros métodos de diagnóstico	20
6.5. Análises laboratoriais	21
7. Diagnóstico diferencial.....	22
8. Tratamento	23
8.1. Forma localizada	23
8.2. Forma generalizada.....	24
8.2.1. Amitraz	26
8.2.1.1. Indicações de utilização	26
8.2.1.2. Protocolos de tratamento	27
8.2.1.3. Efeitos secundários	28
8.2.1.4. Tratamento com outras formulações de amitraz (coleira e unção punctiforme)	28
8.2.2. Lactonas macrocíclicas	29
8.2.2.1. Ivermectina	30
8.2.2.2. Milbemicina oxima.....	32
8.2.2.3. Moxidectina	33
8.2.2.4. Doramectina.....	35
8.3. Outras opções de tratamento	35
8.4. Tratamento de doenças concomitantes	37
9. Monitorização terapêutica.....	38
10. Prognóstico.....	39
10.1. Demodicose localizada.....	39
10.2. Demodicose generalizada	39
III. Estudo de uma nova técnica atraumática para diagnóstico de <i>Demodex canis</i> e sua comparação com técnicas já utilizadas	41
1. Objectivos.....	41
2. Material e métodos	41
2.1. Critérios de inclusão de animais no estudo.....	41
2.2. Amostra em estudo	41
2.3. Protocolo experimental	42
2.4. Análise estatística.....	44
3. Resultados	45
3.1. Caracterização da população e da apresentação clínica de demodicose	45

3.2. Caracterização dos sinais clínicos observados.....	46
3.3. Número de amostras obtidas.....	46
3.4. Estudo dos métodos de diagnóstico antes do início do tratamento.....	47
3.4.1. Sensibilidade relativa.....	47
3.4.2. Número de ácaros contabilizados.....	49
3.5. Estudo dos métodos de diagnóstico após o início do tratamento.....	51
3.5.1. Sensibilidade relativa.....	52
3.5.2. Número de ácaros contabilizados.....	52
4. Discussão.....	54
4.1. População estudada.....	54
4.2. Caracterização da população e da apresentação clínica de demodicose.....	55
4.3. Resultados obtidos consoante a forma clínica de DC.....	56
4.4. Estudo dos métodos de diagnóstico após o início do tratamento.....	57
4.5. Comparação dos métodos de diagnóstico.....	59
5. Conclusão e perspectivas futuras.....	61
IV. Bibliografia.....	63
V. Anexos.....	72
Anexo 1. Apresentação realizada pela autora nas sessões de estagiários durante o estágio curricular, “Novas abordagens de diagnóstico e terapêutica para a Demodicose Canina”.....	72
Anexo 2. Ficha do paciente (original da autora).....	77
Anexo 3. Folheto informativo do produto <i>Clear-up Strips</i> da NIVEA®.....	78
Anexo 4. Caracterização do tipo de demodicose apresentada por cada animal e resultados obtidos para os quatro métodos de diagnóstico.....	79

Índice de Figuras

Figura 1. Morfologia de uma fêmea de <i>Demodex canis</i> (320x) (fotografia original).....	5
Figura 2. Ilustração comparativa entre <i>D. canis</i> (a), <i>D. cornei</i> (b) e <i>D. injai</i> (c) (Com autorização e adaptado de de Rojas et al. 2012).	6
Figura 3. Fases do ciclo evolutivo de <i>Demodex canis</i> (Com autorização e adaptado de Meireles, 1984).	7
Figura 4. Demodicose localizada com uma zona circunscrita de alopecia (fotografia original).	13
Figura 5. Diferentes apresentações clínicas de DG, demodicose juvenil com infecção bacteriana ligeira (a) e demodicose adulta complicada por infecção bacteriana grave (b) (fotografias originais).	14
Figura 6. Quadro de pododemodicose apresentando eritema interdigital e ligeira tumefacção dos dígitos (fotografia original).	15
Figura 7. Observação de <i>D. canis</i> após raspagem cutânea profunda (x140) (fotografia original).	17
Figura 8. Alteração histopatológica na DC: folículos pilosos distendidos preenchidos por ácaros. Coloração Hematoxilina e Eosina. Ampliação 100x. (Cortesia da Professora Doutora Conceição Peleteiro).....	19
Figura 9. Paciente tratado com ivermectina (0,6 mg/kg/dia) e antibioterapia PO, sendo (a) antes do tratamento e (b) 3 meses após início da terapêutica (fotografias originais).	31
Figura 10. Aplicação da banda NIVEA® em zonas onde a realização das raspagens profundas é difícil e dolorosa: face lateral esquerda do MPD (a) e zona interdigital (b) (fotografias originais).	43
Figura 11. Comparação da visualização ao microscópio óptico do produto obtido pela técnica da fita adesiva (a), técnica NIVEA® (b), raspagens profundas (c) e tricograma (d) (fotografias originais).	44
Figura 12. Recolha de material através dos quatro métodos de diagnóstico: raspagens profundas (a), tricograma (b), fita adesiva (c) e técnica NIVEA® (d) (fotografias originais). .	47

Índice de Tabelas

Tabela 1. Classificação taxonómica dos parasitas do género <i>Demodex</i>	5
Tabela 2. Estimativa do preço dos tratamentos de DG mais comuns para um cão de 10 kg durante 4 meses de tratamento.	25
Tabela 3. Características epidemiológicas da população estudada e seu diagnóstico.....	45
Tabela 4. Análise estatística da concordância entre os resultados obtidos para os quatro métodos de diagnóstico.	48
Tabela 5. Sensibilidade relativa dos quatro métodos no diagnóstico nas várias formas clínicas de DC.....	49
Tabela 6. Número mínimo, máximo e mediana dos parasitas adultos detectados com os vários métodos de diagnóstico consoante a forma clínica de DC.....	51

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Distribuição percentual das horas despendidas em cada serviço durante o estágio no Hospital Escolar da FMV-UL.	2
Gráfico 2. Distribuição das formas clínicas de demodicose na população estudada (n=12). 46	
Gráfico 3. Sensibilidades relativas obtidas para os quatro métodos de diagnóstico.	48
Gráfico 4. Número de ácaros contabilizados pelos quatro métodos de diagnóstico.	50
Gráfico 5. Diagrama de caixa relativo à contagem de ácaros totais obtida para cada método de diagnóstico.....	50
Gráfico 6. Sensibilidades relativas obtidas para os quatro métodos de diagnóstico na consulta de diagnóstico (a) e na consulta de <i>follow-up</i> (b).	52
Gráfico 7. Número de ácaros contabilizados pelos quatro métodos na consulta de diagnóstico.	53
Gráfico 8. Número de ácaros contabilizados pelos quatro métodos de diagnóstico na primeira consulta de <i>follow-up</i>	54

Lista de Abreviaturas e Símbolos

AMC – Amoxicilina e ácido clavulânico

BID – A cada 12 horas

Cp – Comprimido

DA – Demodicose adulta

DC – Demodicose canina

DG – Demodicose generalizada

DJ – Demodicose juvenil

DL – Demodicose localizada

ECVD – *European College of Veterinary Dermatology*

FMV – Faculdade de Medicina Veterinária

IgG – Imunoglobulina G

IL – Interleucina

IFN- γ – Interferão gamma

IVBL – Blastogénese linfocitária *in vitro*

MAD – Membro anterior direito

MAE – Membro anterior esquerdo

MPD – Membro posterior direito

MPE – Membro posterior esquerdo

mRNA – RNA mensageiro

PCR – Reacção de polimerização em cadeia

PO – *Per os*

Ppm – Partes por milhão

SC – Subcutânea

SID – A cada 24 horas

SNC – Sistema nervoso central

TNF- α – Factor de necrose tumoral alfa

TNF- β – Factor de necrose tumoral beta

TRC – Tempo de repleção capilar

I. Introdução e breve descrição das actividades desenvolvidas durante o estágio

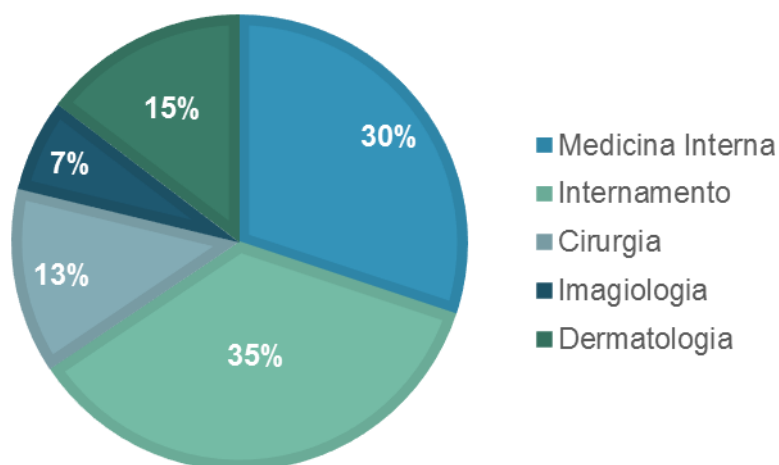
Este documento, realizado no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV), encontra-se dividido em três partes. A primeira compreende uma breve descrição das actividades realizadas durante o estágio curricular no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL), seguindo-se a revisão bibliográfica sobre a Demodicose Canina, na qual serão abordados os vários aspectos da doença e por fim, na terceira e última parte, é descrita a componente prática experimental desenvolvida durante o estágio curricular, bem como a comparação e discussão dos resultados obtidos.

O estágio curricular foi realizado na área de Clínica de Animais de Companhia, no Hospital Escolar da FMV-UL, sob a orientação da Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço e co-orientação da Professora Doutora Isabel Pereira Fonseca. Teve a duração de 6 meses, compreendidos entre o dia 2 de Setembro de 2013 e o dia 28 de Fevereiro de 2014.

No Hospital Escolar da FMV-UL existem consultas de primeira opinião e consultas de referência, estando para tal disponíveis várias especialidades como dermatologia, oftalmologia, oncologia, cardiologia, cirurgia, comportamento animal, neurologia, animais exóticos, doenças infecciosas e ortopedia. Estas consultas são complementadas por meios de diagnóstico como radiologia, TAC, ecografia, mielografia, endoscopia, análises parasitológicas e virológicas, assim como por diversos serviços como internamento, quimioterapia e banco de sangue. O hospital está aberto durante todo o ano e possui serviço de urgências.

Este estágio compreendeu um total de 1216 horas, sendo estas divididas pelas seguintes áreas principais: medicina interna, dermatologia, internamento, imagiologia e cirurgia (Gráfico 1). Adicionalmente, eram organizadas sessões de apresentação de vários temas relacionados com clínica de animais de companhia, apresentados por estagiários em horário pós-laboral. A autora teve a oportunidade de participar com o tema “Novas abordagens de diagnóstico e terapêutica para a Demodicose Canina” (Anexo 1).

Gráfico 1. Distribuição percentual das horas despendidas em cada serviço durante o estágio no Hospital Escolar da FMV-UL.



Medicina Interna

Na medicina interna, onde foram completadas 366 horas, as principais competências desenvolvidas foram a recolha da história pregressa e realização do exame físico, transmitindo depois a informação ao Médico Veterinário responsável. Muitas vezes, eram também discutidos os diagnósticos diferenciais a ter em conta, assim como possíveis opções terapêuticas. Para além disto, foram praticados vários procedimentos como triagem e contenção dos animais, preparação e administração de vacinas ou medicação, cateterização venosa, colheita de sangue para análises, realização de testes rápidos, entre outros.

Dermatologia

Este estágio teve particular incidência na área de dermatologia, onde foram despendidas cerca de 178 horas. A maioria das tarefas desempenhadas eram semelhantes às da medicina interna, porém, acrescentam-se alguns procedimentos como a realização de citologias cutâneas e auriculares, limpeza auricular, tricogramas, raspagens cutâneas, exame com lâmpada de Wood, testes intradérmicos e vídeo-otoscopias. Mais uma vez, após a recolha e transmissão da história pregressa, eram discutidos os possíveis diagnósticos, assim como os tratamentos mais indicados.

Internamento

O internamento totalizou 432 horas, divididas por turnos de 24 horas. A estagiária preparou e administrou a medicação aos animais internados consoante as suas fichas de internamento, supervisionou o seu bem-estar e saúde nas jaulas, tratando das suas necessidades básicas e monitorizando cada animal de acordo com a coloração das mucosas, TRC, frequência cardíaca e respiratória e pulso. Foi ainda onde surgiu a

oportunidade de assistir e participar em alguns procedimentos, tais como colocação de sondas naso-gástricas, algaliação, transfusões sanguíneas, drenagem de derrames, enemas, fisioterapia e curvas de glicemia.

O internamento do hospital da FMV divide-se no internamento geral de cães e gatos, no internamento dos animais que realizam quimioterapia e ainda no internamento na unidade de doenças infecciosas.

Cirurgia

Na cirurgia foram completadas 160 horas ao longo do mês de Outubro. Neste caso, as tarefas foram divididas com um grupo de cerca de 4 estagiárias, pelo que se iam realizando de forma rotativa, sendo estas: preparação do paciente (desde a preparação e administração da pré-medicação e indutores anestésicos até à colocação do cateter, tricotomia e preparação asséptica do campo cirúrgico), entubação endotraqueal, monitorização anestésica, colocação de pensos e prescrição de receitas pós-cirúrgicas. Quanto à participação nas cirurgias, esta focou-se principalmente na realização de suturas cutâneas. Após as cirurgias, os pacientes eram acompanhados até ao internamento, sendo monitorizados até à sua recuperação.

Imagiologia

A área de imagiologia engloba a radiologia, a tomografia axial computadorizada (TAC) e a ecografia. Neste serviço, ao longo de 80 horas, foi possível acompanhar a realização de raios-x, raios-x de contraste como trânsito baritado e mielografia, TACs, ecografias abdominais, cardíacas e também oculares. A estagiária tinha como funções posicionar, conter e monitorizar a anestesia dos pacientes sempre que esta era necessária.

II. Revisão Bibliográfica – Demodicose Canina

A demodicose canina (DC) é uma doença cutânea inflamatória provocada pela multiplicação excessiva de ácaros comensais do género *Demodex* (Miller, Griffin, & Campbell, 2013). É também conhecida por sarna demodécica, sarna folicular ou sarna vermelha, denominações em desuso, pois o termo “sarna” está associado à ideia de tratamento e cura fácil (Meireles, 1984), assim como a um carácter contagioso e pruriginoso, os quais não caracterizam esta doença por si só (Bussi  ras & Chermette, 1991).

1. Etiologia

A maioria dos casos de DC surge devido à proliferação excessiva de ácaros da espécie *Demodex canis*. Durante muito tempo, esta foi considerada a única espécie de *Demodex* a afectar o cão, contudo, no final dos anos 1980, foi identificado um  caro *Demodex* com um corpo mais curto, o qual foi chamado provisória e não-oficialmente, *Demodex cornei* (Chesney, 1999; Saridomichelakis *et al.*, 1999). Para  l m destes, por volta dos anos 1990, foi descrita uma nova espécie caracterizada por um corpo mais longo,   qual se deu o nome de *Demodex injai* (Desch & Hillier, 2003; Hillier & Desch, 2002; Mueller & Bettenay, 1999).

Não se sabe ainda se estas espécies são mutantes de *Demodex canis* ou novas espécies adicionais (López, Reyero, & Ba os, 2011; Scott, Miller, & Griffin, 2001). Segundo alguns autores (de Rojas, Riazzo, Callejón, Guevara, & Cutillas, 2012; Bourdeau, 2010) estes três ácaros pertencem   mesma espécie, no entanto, de acordo com outros estudos recentes (Milosevic, Frank, Brahmbhatt, & Kania, 2013; Sastre *et al.*, 2012), *D. canis* e *D. injai* são espécies diferentes enquanto *D. cornei* parece ser uma variante morfológica de *D. canis*. Considerando que a maioria dos autores denomina estas variantes como espécies, será esta a designação atribuída pela autora a *D. injai* e *D. cornei*. A prevalência destas formas na DC causada por *D. canis* permanece incerta (Kuznetsova, Bettenay, Nikolaeva, Majzoub, & Mueller, 2012). Numa análise da casuística do Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV realizada por Madeira de Carvalho *et al.* (2005) entre 1999-2004, registaram-se entre 12 a 26 casos anuais de *Demodex canis*, sendo este o ácaro diagnosticado com maior frequência nos canídeos.

1.1. Taxonomia

Tal como demonstra a Tabela 1, o género *Demodex* pertence à ordem Acarina e à família Demodicidae (Foreyt, 2001).

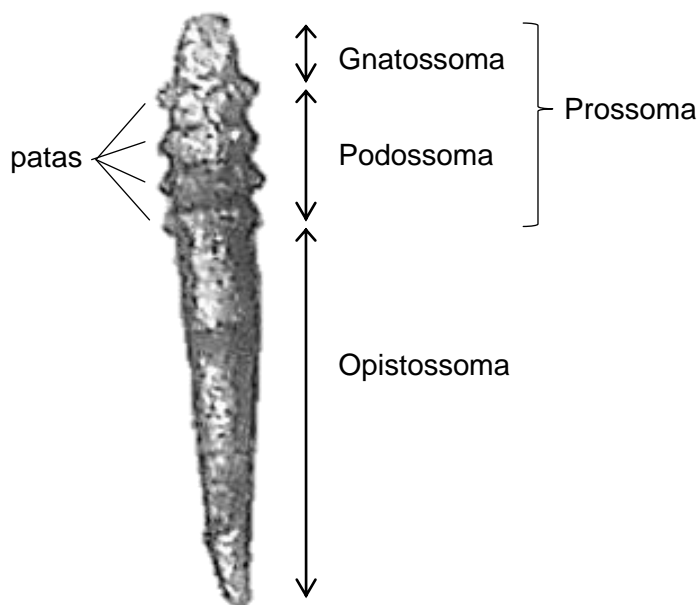
Tabela 1. Classificação taxonómica dos parasitas do género *Demodex*.

Filo	Arthropoda
Classe	Arachnida
Ordem	Acarina
Família	Demodicidae
Género	<i>Demodex</i> sp.
Espécies	<i>Demodex canis</i> <i>Demodex injai</i> <i>Demodex cornei</i>

1.2. Morfologia

Os ácaros do género *Demodex* têm um corpo alongado e achatado dorsoventralmente, com dimensões de 40 x 250 µm nos machos e 40 x 300 µm nas fêmeas (Miller *et al.*, 2013). O seu corpo é composto por dois segmentos: o cefalotórax (ou prossoma) e o abdómen (ou opistossoma). O prossoma engloba o gnátossoma que comporta as peças bucais (um hipostoma médio, um par de quelíceras e um par de pedipalpos) e o podossoma que inclui quatro pares de patas nos adultos e nas ninfas e três pares no caso das larvas (Madeira de Carvalho, 2000; Corrales, Vázquez, & Campillo, 1999) (Figura 1).

Figura 1. Morfologia de uma fêmea de *Demodex canis* (320x) (fotografia original).

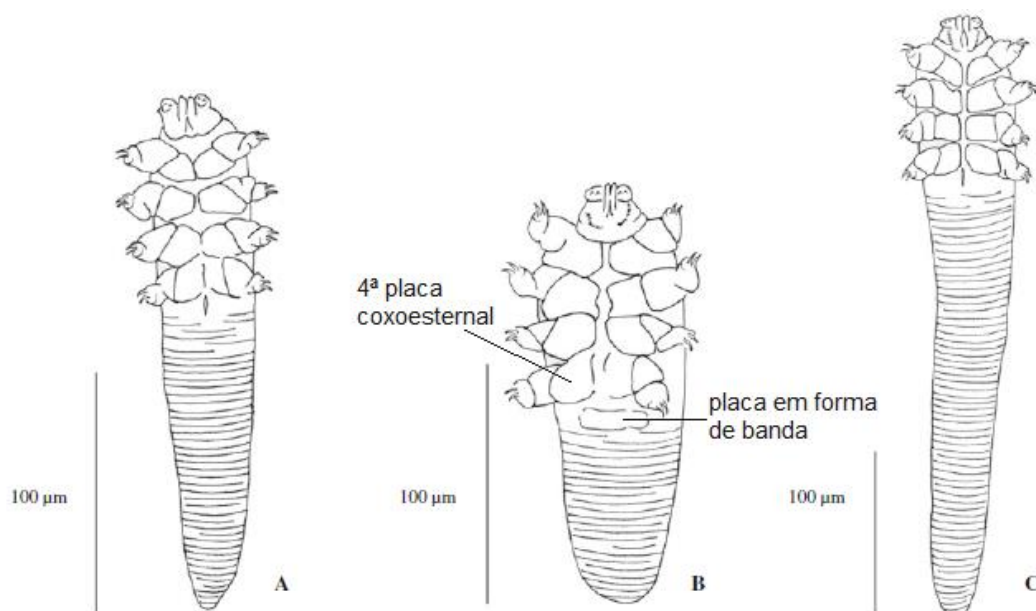


As patas são curtas e truncadas, com segmentos telescópicos (Madeira de Carvalho, 2000) e localizam-se na porção anterior do corpo, de modo que o opistossoma ocupa pelo menos metade do comprimento total (Wall & Shearer, 2001). O abdómen apresenta estriação transversal em ambos os lados. Quanto às aberturas genitais, a vulva da fêmea apresenta uma forma de fenda e encontra-se na face ventral, atrás das coxas IV (Madeira de Carvalho, 2000; Corrales et al., 1999). Por outro lado, o orifício genital do macho localiza-se na face dorsal, ao centro do podossoma, entre o 1º e o 2º par de patas (Meireles, 1984).

Demodex cornei e *Demodex injai* apresentam algumas diferenças morfológicas em relação a *D. canis*, nomeadamente na forma e comprimento do opistossoma.

Como ilustrado na Figura 2, *D. cornei* apresenta uma placa em forma de banda segmentar entre a 4ª placa coxoesternal e o opistossoma, a qual não existe em *D. canis*; a 4ª placa coxoesternal tem uma forma rectangular, sendo esta trapezoidal em *D. canis*; o opistossoma apresenta uma porção terminal mais arredondada e com cerca de metade do comprimento em relação a *D. canis* e a localização do orifício genital é diferente entre *D. cornei* e *D. canis* (de Rojas et al., 2012; Tamura, Kawamura, Inoue, & Ishino, 2001). A média do comprimento corporal total ronda os 139.0 µm na maior parte dos estudos realizados (López et al., 2011). Pelo contrário, o comprimento de *D. injai* é o dobro do de *D. canis* (Ordeix, Bardagí, Scarampella, Ferrer, & Fondati, 2009), sendo a média do comprimento total 362.1 µm. Para além disso, a sua porção terminal apresenta-se mais pontiaguda (de Rojas et al., 2012).

Figura 2. Ilustração comparativa entre *D. canis* (a), *D. cornei* (b) e *D. injai* (c) (Com autorização e adaptado de de Rojas et al. 2012).



2. Ciclo de vida

Este ectoparasita é específico de hospedeiro e apresenta um ciclo de vida monoxeno, ou seja, um só hospedeiro alberga todo o seu ciclo, sendo este localizado na pele, mais especificamente, nos folículos pilosos e ocasionalmente nas glândulas sebáceas e sudoríparas (Corrales *et al.*, 1999). Nestes locais, os ácaros encontram-se com o prossoma virado para baixo, alimentando-se de células, sebo e detritos epidérmicos (Miller *et al.*, 2013; Wall & Shearer, 2001).

Este ciclo tem uma duração aproximada de 20 a 35 dias (Corrales *et al.*, 1999) e envolve 4 fases evolutivas: ovos, larvas, ninfas e adultos (Figura 3). No interior do folículo piloso, as fêmeas põem cerca de 20 a 24 ovos fusiformes que vão dar origem a larvas hexápodes, que por sua vez dão origem a 3 estádios ninfais octópodes (protoninfa, deutoninfa e tritoninfa). Estas vêm à superfície da pele e dão origem aos adultos, também octópodes. Após a cópula, os machos não voltam ao folículo e morrem à superfície da pele (Wall & Shearer, 2001; Meireles, 1984).

Figura 3. Fases do ciclo evolutivo de *Demodex canis* (Com autorização e adaptado de Meireles, 1984).



Podem ser encontrados ácaros em locais extra-cutâneos, como nos linfonodos, parede intestinal, baço, fígado, entre outros. Contudo, isto acontece apenas devido à drenagem linfática e sanguínea, pelo que todos os parasitas encontrados nestes locais estão mortos e degenerados (Miller *et al.*, 2013).

Apesar de todas as espécies de ácaros *Demodex* estarem classificadas como ácaros foliculares (Gross, Ihrke, Walder, & Affolter, 2005), a forma curta *D. cornei* parece localizar-se maioritariamente no estrato córneo da epiderme, como demonstrado por biópsias cutâneas e raspagens superficiais com mais ácaros *D. cornei* do que as profundas

(Chesney, 1999; Saridomichelakis *et al.*, 1999). A forma longa, *D. injai*, localiza-se nas glândulas e ductos sebáceos, mas também nos folículos pilosos (Sastre *et al.*, 2012; Desch & Hillier, 2003).

3. Transmissão

A transmissão de *D. canis* ocorre por contacto directo da mãe com a ninhada durante os seus primeiros 2 a 3 dias de vida. Os ácaros começam por colonizar a face dos cachorros e podem ser demonstrados nos folículos pilosos por volta das 16 horas de vida. Sabe-se que não ocorre transmissão intra-uterina pois se as crias nascerem por cesariana e forem separadas da mãe, não são encontrados parasitas (Miller *et al.*, 2013).

Estes ácaros não sobrevivem fora do hospedeiro (Wall & Shearer, 2001) e a sua transferência experimental não resulta em doença. Deste modo, a demodicose não é considerada contagiosa para outros animais, nem zoonótica para as pessoas (ESCCAP, 2012; Nuttall, Harvey, & McKeever, 2009; Nesbitt & Ackerman, 1998).

As condições ambientais mais favoráveis para *D. canis* surgem no Outono e Primavera (Madeira de Carvalho & Santos, 2006), pois este ácaro apresenta tropismo para o intervalo térmico de 16 a 41°C, sendo que o seu movimento cessa com temperaturas ambientais abaixo de 15°C. Fora do hospedeiro, em condições laboratoriais, sobrevive 37 dias, no entanto, perde a capacidade de infectar, ou seja, de invadir os folículos pilosos. Na superfície da pele, a 20°C e 40% de humidade relativa, os ácaros morrem por dessecação em 45 a 60 minutos (Miller *et al.*, 2013).

4. Patogénese

Apesar da prevalência e potencial gravidade da DC, muitos aspectos da sua patogénese permanecem ainda desconhecidos (Ravera *et al.*, 2013). Sabe-se que os ácaros *Demodex* fazem parte da fauna normal da pele e condutos auditivos dos cães, estimando-se que 30 a 80% da população canina é portadora assintomática destes ácaros (Nesbitt & Ackerman, 1998). Recentemente, foi demonstrado pela técnica PCR em tempo real que, embora em pequenas quantidades, estes ácaros habitam a pele de cães saudáveis, confirmando-se formalmente este facto (Ravera *et al.*, 2013). Assim, o agente etiológico não é o único responsável pelo desenvolvimento da doença. A DC é uma doença multifactorial que envolve factores genéticos, imunológicos, parasitários, bacterianos, ecológicos cutâneos e ambientais (Verde, 2005). A hipótese que diferenças na virulência de *D. canis* poderiam estar implicadas no desenvolvimento da DC foi considerada improvável, pois em cachorros da mesma ninhada sujeitos às mesmas populações de ácaros, uns desenvolvem a doença e outros mantêm-se normais (Miller *et al.*, 2013).

Actualmente, considera-se que a predisposição hereditária e a imunossupressão das células T estão envolvidas na proliferação excessiva de *D. canis* (Miller *et al.*, 2013).

4.1. Influência genética

A DC tem, sem dúvida, uma base hereditária. Existem vários aspectos que o comprovam: é mais comum em raças puras, ocorre com maior incidência em certas raças em detrimento de outras, surge repetidamente em ninhadas diferentes dos mesmos progenitores, e ainda, a possibilidade de reduzir ou mesmo erradicar a doença em canis de criação que não façam a reprodução dos animais afectados (Miller, 1995).

As raças consideradas predispostas são o Shar Pei, West Highland White Terrier, Scottish Terrier, Bulldog Inglês, Boston Terrier, Dogue Alemão, Weimaraner, Airedale Terrier, Malamute do Alasca e Galgo Afegão (Miller *et al.*, 2013). Num estudo americano que abrangeu uma população numerosa (Plant, Lund, & Yang, 2011), as raças com maior incidência de demodicose generalizada juvenil (desenvolve-se antes dos 18 meses de idade), foram o American Staffordshire Terrier, Staffordshire Bull Terrier, Shar Pei e o Bulldog Francês.

Estudos realizados em canis de Collies e Beagles sugeriram um modo de transmissão hereditária autossómica recessiva (Scott *et al.*, 2001). A associação da demodicose com uma doença hereditária dos Beagles (deficiência do factor VII) é outro aspecto que suporta este componente hereditário (Corrales *et al.*, 1999).

4.2. Influência imunitária

O sistema imunitário é crucial na manutenção do baixo número de ácaros nos cães saudáveis, no entanto, a sua contribuição para o desenvolvimento de demodicose ainda não é totalmente compreendida (Gortel, 2006). Existem vários factos que apoiam esta teoria. A DC pode desenvolver-se em cães adultos que estejam a ser tratados com fármacos imunossupressores, como corticoesteróides ou citotóxicos. Da mesma forma, pode surgir concomitantemente com outras doenças imunossupressoras como o hiperadrenocorticism, hipotiroidismo, diabetes *mellitus*, neoplasias (especialmente linfoma) e leishmaniose (Miller *et al.*, 2013; Gross *et al.*, 2005). Esta hipótese é confirmada quando é possível tratar estas doenças e a demodicose acaba por desaparecer (Corrales *et al.*, 1999). Apesar de tudo, a imunossupressão por si só não explica a maioria dos casos de demodicose. Se os cães mais jovens com demodicose generalizada (DG) estivessem imunodeprimidos, deveriam desenvolver doenças virais, pneumonias ou infecções sistémicas, o que não se verifica. O mesmo acontece na maior parte dos casos de cães adultos com neoplasias ou outra das condições acima mencionadas, que apesar de terem o sistema imunitário comprometido, não desenvolvem demodicose (Miller *et al.*, 2013). Para além disto, a imunossupressão nem

sempre é documentada durante a demodicose (Gross *et al.*, 2005) e aproximadamente 25% dos casos de demodicose adulta são idiopáticos (Mueller, 2005).

De acordo com vários estudos realizados, o tipo de imunidade afectado é a imunidade celular.

A imunidade não específica não parece ter implicações na DC pois não ocorrem alterações no número nem morfologia dos neutrófilos, nem deficiências no complemento. Além disso, cães com disfunção dos neutrófilos não desenvolveram demodicose (Miller *et al.*, 2013). Um estudo recente (Martínez-Subiela *et al.*, 2014) demonstrou que na DG, ao contrário da demodicose localizada (DL), ocorre uma reacção inflamatória não específica traduzida por uma resposta aguda, com aumentos significativos da proteína reactiva C (média de 51,7 mg/L, sendo 5,4 mg/L nos saudáveis e 5 mg/L na DL) e da haptoglobina (média de 5,97 g/L, sendo 0,35 g/L nos saudáveis e 0,31 g/L na DL) (ambas proteínas plasmáticas de fase aguda), o que poderá ajudar a distinguir estas duas formas clínicas, assim como monitorizar a evolução da doença, pois ambas normalizaram os seus valores após o tratamento.

A imunidade humoral também não parece estar relacionada com a DC. Os cães afectados apresentam respostas imunitárias humorais normais a ligeiramente aumentadas; hiper-actividade das áreas correspondentes aos linfócitos B no baço e linfonodos; o número de células plasmáticas normal a aumentado; a quantidade de globulinas aumentada e são capazes de desenvolver uma resposta imunitária quando vacinados contra a esgana e a hepatite infecciosa canina (Miller *et al.*, 2013; Lemarié & Horohov, 1996).

Quanto à imunidade celular, foi demonstrado que os cães com DG apresentam uma diminuição da resposta dos linfócitos T através de medições *in vitro* da blastogénese dos linfócitos (IVBL) (Miller *et al.*, 2013; Corbett, Banks, Hinrichs, & Bell, 1975; Hirsh, Baker, Wiger, Yaskulski, & Osburn, 1975) e testes de reactividade cutâneos *in vivo* que utilizaram mitogénios (agentes que estimulam a mitose) dos linfócitos T (fitohemaglutinina, concanavalina A ou dinitroclorobenzeno) (Wilkie, Markham, & Hazlett, 1979; Healey & Gaafar, 1977; Scott, Farrow, & Schultz, 1974). Os cães com a forma localizada ou generalizada numa fase inicial apresentaram resultados normais na IVLB, o que contribuiu para a hipótese de que a imunossupressão dos linfócitos T seria induzida pelos ácaros (Barriga, Al-Khalidi, Martin, & Wyman, 1992). No entanto, noutro estudo (Barta, Waltman, Oyekan, McGrath, & Hribnik, 1983), só os cães com DG e concomitante piodermite bacteriana é que apresentaram supressão da IVLB e para além disso, o grau de supressão correlacionou-se com o grau de piodermite, levando os autores a suspeitar que a piodermite bacteriana é a responsável pela imunossupressão. Deste modo, verifica-se que a imunossupressão dos linfócitos T pode estar relacionada com o aumento do número de ácaros e/ou com piodermite secundária (Miller *et al.*, 2013).

Uma vez que não há linfopenia, nem hipofunção das zonas envolvidas na produção de linfócitos T (gânglios linfáticos e baço), a diminuição da sua resposta parece estar relacionada com alterações de função e não de produção (Miller *et al.*, 2013; Corrales *et al.*, 1999).

A imunossupressão dos linfócitos T pode ser explicada por uma alteração da resposta Th1 e consequentemente das suas citocinas: IL-2, TNF- α , TNF- β e IFN- γ . Existem dois tipos de resposta T *helper*, 1 e 2. As células Th2 são responsáveis por mediar a resposta imunitária a parasitas. Assim, pensa-se que ocorra um desenvolvimento da resposta Th2 enquanto a Th1 é suprimida. Para além disso, são também mediadoras da actividade dos anticorpos, o que explica a razão destes estarem normais ou aumentados na DG. Deste modo, um balanço a favor da resposta Th2 em detrimento da Th1 pode explicar os achados imunológicos da DG (Tani *et al.*, 2002; Lemarié & Horohov, 1996). Lemarié (1996) sugeriu que pode haver uma diminuição da produção e expressão dos receptores de IL-2. Contudo, noutro estudo realizado por Tani *et al.* 2002 os valores de IL-2 mantiveram-se normais, sugerindo que a supressão Th1 poderá estar mais relacionada com a diminuição da produção de IFN- γ . Verificou-se ainda que a expressão mRNA de IL-5, uma interleucina produzida pelas células Th2, estava aumentada tanto na DL como na DG e diminuía aquando da resolução da doença, pelo que esta foi sugerida como um bom indicador para a monitorização da evolução da DC.

De acordo com estudos mais recentes (Singh & Dimri, 2014), cães com DG podem apresentar leucocitopenia, stress oxidativo e os ácaros *Demodex* são capazes de regular a expressão mRNA de citocinas, promovendo a actividade de IL-10 e TGF- β (imunossupressoras) e a supressão de TNF- α (citocina Th1 que em baixas concentrações participa na resposta de defesa do hospedeiro). A supressão de linfócitos T CD4+ provocada por *D. canis* pode ser devida à apoptose ou exaustão imunológica, enquanto a leucocitopenia pode surgir devido à apoptose prematura dos leucócitos periféricos, contribuindo ambos para a imunossupressão (Singh, Kumar, Jadhav, & Saxena, 2011). O stress oxidativo é devido à produção excessiva de O₂ reactivo e pode resultar em lesões celulares e consequente comprometimento de reacções imunes e inflamatórias (Singh & Dimri, 2014).

Concluindo, a teoria mais aceite sobre a patogénese da DC é a de que os cães afectados apresentam uma imunodeficiência hereditária das células T, *D. canis* específica e de expressão variável, a qual, por si só, ou em conjunto com outra condição imunodepressora, resulta na doença (Miller *et al.*, 2013; Miller, 1995).

4.3. Outros factores predisponentes

Tal como referido, as disfunções genéticas e imunológicas são parte determinante na patogénese da DC. Porém, foram sugeridos outros factores que podem influenciar o desenvolvimento e progressão da DG, tais como a idade, subnutrição, ciclo éstrico, estado hormonal, parto, lactação, stress, comprimento do pêlo (Miller *et al.*, 2013; Singh & Dimri, 2014), endoparasitas (como *Dirofilaria* sp. ou *Trichuris vulpis*) (Leitão & Leitão, 2008). Os banhos excessivos também poderão favorecer a proliferação de *D. canis* (Meireles, 1984).

Existe controvérsia quanto à influência do comprimento do pêlo na DC. Alguns autores (Plant *et al.*, 2011; Meireles, 1984) acreditam que é mais frequente em cães de pêlo curto devido a um maior desenvolvimento das glândulas sebáceas (Meireles, 1984), no entanto, segundo Miller *et al.* (2013) este factor não aparenta ter influência. Para além disso, o sexo, tamanho e actividade das glândulas sebáceas, deficiência em biotina (Miller *et al.*, 2013) e a esterilização nos machos (Leitão & Leitão, 2008) também não parecem ter efeito no desenvolvimento nem progressão da DC. Na verdade, a maioria dos casos clínicos é observada em cães de raças puras, com boa condição corporal e alimentados com uma boa dieta (Miller *et al.*, 2013).

5. Sinais clínicos

A DC pode ser classificada consoante a apresentação clínica e a idade. Assim, são reconhecidas 5 formas clínicas, 3 baseadas na apresentação clínica (forma localizada, generalizada e pododemodicose) e 2 baseadas na idade (forma juvenil e adulta) (Nesbitt & Ackerman, 1998). A evolução e prognóstico de cada forma são diferentes e a sobreposição entre elas é comum (Miller *et al.*, 2013; Leitão & Leitão, 2008).

5.1. Demodicose localizada

A demodicose localizada (DL) é a forma mais comum da doença, ocorre principalmente em jovens com 3 a 6 meses de idade (forma juvenil) e na maior parte dos casos a sua evolução é benigna (Miller *et al.*, 2013). Porém, também pode surgir em cães até 2 anos de idade ou mesmo em adultos (ESCCAP, 2012).

A definição de DL *versus* DG não está uniformemente definida, no entanto, a maioria dos autores considera que a DL se caracteriza por envolver até cinco pequenas zonas circunscritas e irregulares, com vários graus de descamação, alopecia, eritema e diminuição da espessura dos pêlos (Figura 4).

Figura 4. Demodicose localizada com uma zona circunscrita de alopecia (fotografia original).



A pele pode apresentar uma cor acinzentada com comedões, moldes foliculares e cheiro a mofo (Nuttall *et al.*, 2009; Nesbitt & Ackerman, 1998). Os comedões surgem particularmente no Pastor Alemão (Gross *et al.*, 2005). A presença de piodermite secundária ou *Malassezia* não é comum, no entanto, se presentes podem causar prurido, pápulas, pústulas, descamação, crostas, seborreia e dor (Nuttall *et al.*, 2009; Verde, 2005).

Afecta maioritariamente a face, especialmente a zona peri-ocular e comissuras labiais, os membros anteriores, nomeadamente os codilhos e espaços interdigitais, e mais raramente o tronco, abdómen, membros posteriores ou conduto auditivo, provocando uma otite externa ceruminosa bilateral (otodemodicose) que pode ser a única manifestação clínica da doença e que geralmente necessita de tratamento específico (Miller *et al.*, 2013; Corrales *et al.*, 1999). No entanto, as lesões podem surgir em qualquer zona do corpo (Medleau & Hnilica, 2006).

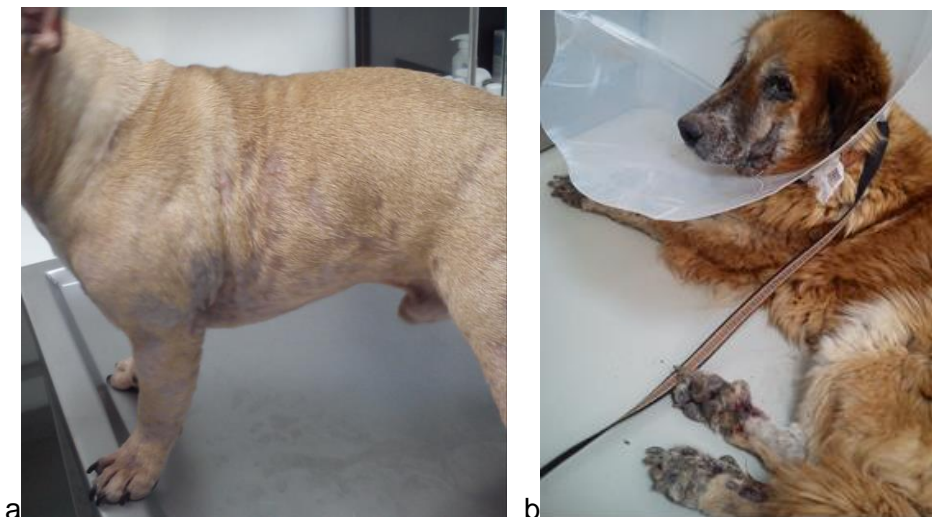
O prognóstico é muito bom uma vez que a cura espontânea sem tratamento ocorre em 90% dos casos, por volta dos 12 a 18 meses de idade, sendo que esta forma clínica pode durar cerca de 40 dias a 3 meses. Aproximadamente 10% dos casos evoluem para DG (Gross *et al.*, 2005; Craig, 2003; Corrales *et al.*, 1999). A recidiva é rara mas as lesões podem aparecer e desaparecer durante alguns meses (Miller *et al.*, 2013).

5.2. Demodicose generalizada

Esta forma clínica é mais grave e potencialmente fatal (Mueller *et al.*, 2012). Na maior parte dos casos, a DG inicia-se por volta dos 3 a 18 meses (forma juvenil) e se não se resolver espontaneamente (o que pode ocorrer em 30 a 50% dos pacientes com boa condição corporal, com menos de 1 ano (Miller *et al.*, 2013) e a receber tratamento sintomático (Leitão & Leitão, 2008)) ou não for adequadamente tratada, mantém-se até à idade adulta. Raramente, pode surgir em cães adultos com mais de 4 anos que nunca tinham desenvolvido a doença (forma adulta) (Figura 5). Estes adultos encontram-se

imunodeprimidos, no entanto, em 25% dos casos não são encontradas as causas subjacentes à imunossupressão (Mueller, 2005) pelo que o prognóstico da DG é incerto (Verde, 2005).

Figura 5. Diferentes apresentações clínicas de DG, demodicose juvenil com infecção bacteriana ligeira (a) e demodicose adulta complicada por infecção bacteriana grave (b) (fotografias originais).



Geralmente considera-se que 12 ou mais zonas focais afectadas, o envolvimento de uma região corporal inteira como, por exemplo, a face e/ou duas ou mais extremidades podais afectadas são indicativos de DG. Em cães com 6 a 12 zonas focais afectadas é aconselhada uma abordagem individualizada (Miller *et al.*, 2013).

Os sinais clínicos variam, sendo que normalmente incluem zonas abrangentes e multifocais de alopecia, descamação, eritema, hiperpigmentação, comedões e moldes foliculares. A infecção bacteriana secundária é comum, levando ao desenvolvimento de pápulas, pústulas, furunculose, crostas, prurido, dor e por vezes, celulite (Nuttall *et al.*, 2009; Gross *et al.*, 2005). As infecções secundárias mais graves estão associadas a linfadenopatia periférica, febre, depressão e anorexia. Com a cronicidade das lesões surge hiperqueratose e liquenificação (“pele de elefante”) (Corrales *et al.*, 1999). Em relação à distribuição das lesões, o abdómen é a região menos afectada, possivelmente devido à menor quantidade de folículos pilosos, sendo então a cabeça, membros e tronco as zonas mais atingidas. O envolvimento do canal auditivo pode ocorrer quando há lesões na face (Miller *et al.*, 2013).

Por vezes existem formas atípicas da doença. A demodicose oculta é uma forma rara, na qual são observados pequenos nódulos de 2 a 3 mm de diâmetro e alopecia irregular. Microscopicamente está relacionada com granulomas para-foliculares e foliculite mural. Para o diagnóstico deve-se recorrer à biópsia de pele, uma vez que os ácaros são difíceis de encontrar nas raspagens profundas. Ocorre mais frequentemente no Shar Pei (Gross *et al.*,

2005) e no Bulldog Inglês (Miller *et al.*, 2013). Outra forma de DG, mais pruriginosa e que afecta o focinho, orelhas, patas, tronco e a parte ventral do corpo, pode surgir nalgumas raças, especialmente no West Highland White Terrier, tornando-se fácil de confundir com dermatite atópica. Porém, na DG o eritema é folicular e está associado a pápulas foliculares, comedões e moldes foliculares, enquanto na dermatite atópica o eritema é mais difuso (Nuttall *et al.*, 2009).

5.3. Pododemodicose

O envolvimento das extremidades podais pode ocorrer em conjunto com a DG, ser uma sequela da DG que curou em todos os outros locais ou ainda, ser a única manifestação clínica da doença (Gross *et al.*, 2005).

Os locais mais afectados são os dígitos, os espaços interdigitais (Figura 6), os espaços entre as almofadinhas plantares e também à volta da zona de inserção das unhas (Gross *et al.*, 2005).

Figura 6. Quadro de pododemodicose apresentando eritema interdigital e ligeira tumefacção dos dígitos (fotografia original).



Caracteriza-se por furunculose interdigital papulonodular, associada a edema, eritema, tractos fistulosos, dor e claudicação (Nuttall *et al.*, 2009; Nesbitt & Ackerman, 1998). Estas lesões são particularmente susceptíveis ao desenvolvimento de piodermite secundária, a qual se pode tornar crónica e extremamente resistente ao tratamento. Raças de grande porte como o Dogue Alemão, Terra Nova, São Bernardo e Bobtail (também conhecido por Antigo Cão de Pastor Inglês) são especialmente afectadas pela dor e edema (Miller *et al.*, 2013).

5.4. Particularidades clínicas de *D. cornei* e *D. injai*

A infecção por *D. cornei* surge normalmente associada a *D. canis* e não parecem existir características distintas, tanto na história pregressa como nos sinais clínicos, que permitam identificar a sua presença (López *et al.*, 2011; Chesney, 1999). Na prática clínica pode ser difícil de diferenciar estes dois ácaros, pelo que, Chen, Hou, & Bourdeau (2002) sugerem a utilização do rácio corporal (prossoma/opistossoma) para além da comparação das diferentes características morfológicas.

A demodicose causada por *D. injai* é mais comum em cães adultos e, apesar de ter sido descrita em diversas raças, parece ser mais frequente nos Terriers, nomeadamente no West Highland White Terrier. Pode estar associada a dermatite alérgica, doenças sistémicas (hipotiroidismo ou hiperadrenocorticism iatrogénico), e/ou imunossupressão ou terapêuticas imunomoduladoras (Robson, Burton, Bassett, Shipstone, & Mueller, 2003). O seu quadro clínico caracteriza-se principalmente por seborreia oleosa dorso-lombar, a qual não é comum na demodicose causada por *D. canis*. Também podem surgir outras lesões como alopecia, eritema, hiperpigmentação e comedões. A oleosidade que caracteriza este quadro pode ser explicada pela presença dos ácaros nas glândulas e ductos sebáceos dilatados. Não se sabe se esta hiperplasia das glândulas sebáceas resulta de uma anomalia primária ou se é provocada por *D. injai* (Ordeix *et al.*, 2009). Este ácaro pode ser encontrado sozinho (Hillier & Desch, 2002) ou em conjunto com *D. canis* (Desch & Hillier, 2003). Possivelmente esta espécie é subdiagnosticada devido à sua diferente apresentação e ao baixo número de ácaros que são encontrados nas raspagens cutâneas (Robson *et al.*, 2003).

6. Diagnóstico

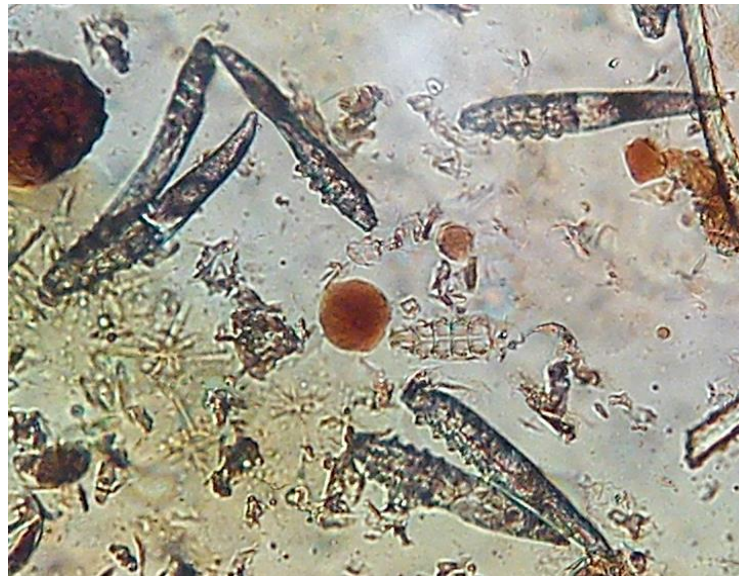
Uma história pregressa sugestiva de DC pode referir desde zonas focais de alopecia não pruríticas no focinho e membros anteriores até piodermites crónicas das extremidades podais ou do mento resistentes à terapêutica (Nesbitt & Ackerman, 1998). Assim, para confirmação da doença é necessário proceder ao exame da pele (Corrales *et al.*, 1999). O método de diagnóstico de eleição é a observação microscópica do produto obtido por raspagens cutâneas profundas. O tricograma e a biópsia de pele podem ser úteis em alguns casos (Leitão & Leitão, 2008).

6.1. Raspagens cutâneas profundas

As raspagens cutâneas profundas, precedidas da compressão manual da pele, são o método mais sensível para o diagnóstico de DC (Beco, Fontaine, Bergvall, & Favrot, 2007). Recorrendo a uma lâmina de bisturi, uma área de cerca de 1 cm², é raspada no sentido de crescimento do pêlo, até surgir sangue capilar, o que indica que se atingiu a profundidade

necessária. Antes e/ou durante a raspagem, é importante espremer a pele de modo a forçar a saída dos ácaros dos folículos pilosos. Para facilitar a aderência dos detritos, pode-se colocar uma gota de óleo mineral na lâmina de bisturi ou na pele a raspar (Mueller *et al.*, 2012). De seguida, o produto da raspagem é transferido para uma lâmina de microscópio, onde foi previamente colocada uma gota de óleo mineral ou parafina líquida e coberto com uma lamela de modo a permitir um melhor contraste e definição dos ácaros (Mueller *et al.*, 2012; Madeira de Carvalho, 2000). O material obtido é examinado ao microscópio óptico (MO) na objectiva 10x (ampliação total 100x). Para otimizar a visualização ao MO é necessário baixar o condensador e diminuir a intensidade da luz, permitindo assim aumentar o contraste (Mueller *et al.*, 2012). Se não forem observadas pequenas gotículas de sangue, a raspagem poderá não ter sido suficientemente profunda (Gross *et al.*, 2005) (Figura 7).

Figura 7. Observação de *D. canis* após raspagem cutânea profunda (x140) (fotografia original).



As zonas seleccionadas para a raspagem devem ser lesões primárias como pústulas e pápulas foliculares. Convém evitar lesões ulceradas, uma vez que apresentam uma menor carga de ácaros *Demodex* (Mueller *et al.*, 2012), assim como zonas muito frágeis, pois a hemorragia resultante pode tornar a interpretação dos resultados ao MO mais difícil (Scott *et al.*, 2001). Em cães de pêlo médio a longo pode ser necessário rapar o pêlo, com cuidado para minimizar a perda de material (Mueller *et al.*, 2012).

Geralmente, este método realiza-se rápida e facilmente na maioria dos animais, no entanto, nalguns casos pode ser necessário realizá-lo sob sedação (Gross *et al.*, 2005) pois, como é um procedimento traumático para a pele, pode infligir dor ao animal e também desconforto ao proprietário. Outra desvantagem é o facto de poder originar cicatrizes inestéticas (Bensignor, 2003).

O diagnóstico é considerado positivo se forem demonstrados adultos ou um rácio elevado de formas imaturas (ovos, larvas e ninfas) em relação aos adultos (Miller *et al.*, 2013). A demonstração de um só ácaro não é diagnóstico de DC, no entanto, como a probabilidade de os encontrar nas raspagens profundas de cães saudáveis é baixa, apesar de serem comensais, a suspeita de demodicose aumenta, pelo que devem ser realizadas raspagens adicionais (Mueller *et al.*, 2012; Fondati *et al.*, 2009).

6.2. Tricograma

Por vezes o diagnóstico de DC pode ser obtido através do tricograma. A sua sensibilidade varia consoante os autores: cerca de 85% de acordo com Saridomichelakis, Koutinas, Farmaki, Leontides, & Kasabalis (2007) ou 40% segundo Bensignor (2003). É especialmente útil na colheita de material de zonas mais difíceis de raspar, como os espaços interdigitais, a zona periocular e perinasal (Gortel, 2006; Bensignor, 2003; Madeira de Carvalho, 2000). Está portanto, especialmente indicado para a pododemodicose e também em casos de demodicose seborreica (Scott *et al.*, 2001). Este procedimento é mais rápido e melhor tolerado pelos cães afectados (Beco *et al.*, 2007), pelo que pode ser utilizado quando estes não permitem a realização das raspagens devido a mau temperamento ou dor (Gortel, 2006).

Os pêlos são arrancados no seu sentido de crescimento, através de uma pinça hemostática e colocados numa lâmina de microscópio com uma gota de óleo mineral, parafina líquida ou lactofenol. Para facilitar a visualização ao MO deve-se cobrir o material com uma lamela (Mueller *et al.*, 2012). De modo a maximizar a probabilidade de encontrar os ácaros, devem ser seleccionadas zonas com hiperqueratose superficial e folicular (Miller *et al.*, 2013) e colhidos cerca de 50 a 100 pêlos (Mueller *et al.*, 2012).

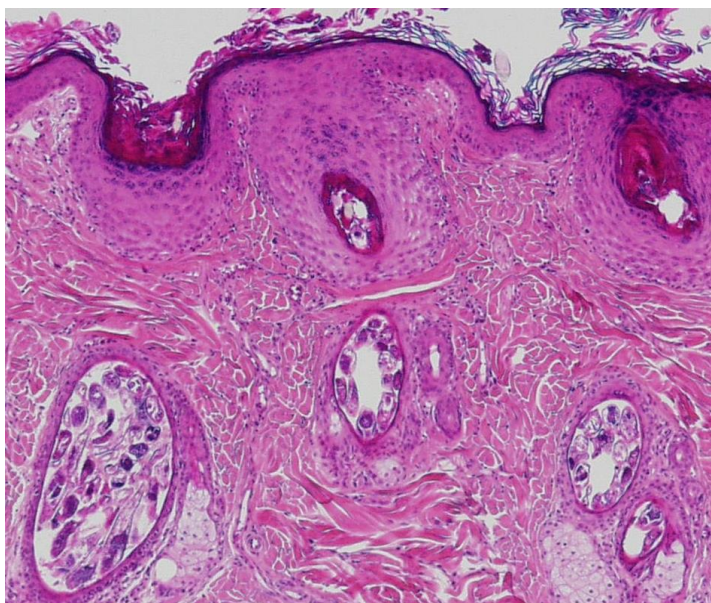
Este método pode ser negativo em cães ligeiramente afectados, pelo que nunca deve ser utilizado para excluir o diagnóstico de DC, nem como substituto das raspagens cutâneas profundas na monitorização do tratamento (Miller *et al.*, 2013; Gortel, 2006).

6.3. Biópsia de pele

Raramente, as raspagens cutâneas profundas e o tricograma podem ser negativos, sendo necessário recorrer à biópsia de pele para evidenciar os ácaros *Demodex* (Mueller *et al.*, 2012). Isto ocorre particularmente na pododemodicose, em lesões como a hiperqueratose ou fibrose e também quando há deposição excessiva de mucina, o que ocorre especialmente na raça Shar Pei (Miller *et al.*, 2013; Gortel, 2006; Hill, 2002). A biópsia é igualmente útil para quando parece existir uma dermatopatia concomitante, como *calcinosis cutis* ou linfoma cutâneo (Gortel, 2006). Assim, em alguns casos, devem ser realizadas biópsias de pele antes de excluir o diagnóstico de demodicose (Craig, 2003).

Os achados histopatológicos incluem folículos pilosos dilatados e preenchidos por ácaros e fragmentos de queratina (Figura 8) (Nesbitt & Ackerman, 1998).

Figura 8. Alteração histopatológica na DC: folículos pilosos distendidos preenchidos por ácaros. Coloração Hematoxilina e Eosina. Ampliação 100x. (Cortesia da Professora Doutora Conceição Peleteiro).



O grau de inflamação varia desde uma resposta inflamatória mínima, com os ácaros *Demodex* confinados aos folículos pilosos até à ruptura dos folículos e total destruição da unidade pilosebácea, com libertação dos ácaros (Corrales *et al.*, 1999; Nesbitt & Ackerman, 1998).

Os três principais padrões histopatológicos de inflamação característicos da DC são: foliculite mural, dermatite nodular, e foliculite e furunculose supurativas (Miller *et al.*, 2013). Estes padrões podem coexistir ou surgir individualmente (Gross *et al.*, 2005). Não parece existir correlação entre a apresentação clínica e os padrões histopatológicos observados na biópsia cutânea (Day, 1997).

A foliculite mural, na qual se observa uma reacção inflamatória direccionada para a parede folicular, parece ser o padrão predominante (Nesbitt & Ackerman, 1998; Caswell, Yager, Parker, & Moore, 1997). São observadas células plasmáticas, linfócitos, macrófagos, mastócitos e eosinófilos à volta dos folículos, assim como linfócitos T citotóxicos CD3+ e CD8+ a infiltrar o epitélio folicular (Miller *et al.*, 2013; Caswell *et al.*, 1997). A foliculite mural de interface é caracterizada pela combinação da foliculite mural com lesões nos queratinócitos foliculares, incluindo degeneração hidrópica, apoptose das células epiteliais foliculares ou incontinência pigmentar (acumulação de melanina na derme superficial) (Caswell *et al.*, 1997). Segundo Caswell *et al.* (1997), a foliculite mural é uma lesão

consistente na demodicose clinicamente activa. Por outro lado, após a resolução clínica, esta deixa de existir e observam-se granulomas perifoliculares e/ou perifoliculite. Estes granulomas perifoliculares, que constituem a dermatite nodular, envolvem fragmentos de ácaros e surgem em 25% dos casos (Miller *et al.*, 2013; Huisinga, Failing, & Reinacher, 2007). A melanose perifolicular é outro achado comum em cães com DG (Miller *et al.*, 2013). A furunculose, uma inflamação do folículo piloso na qual este é destruído (Huisinga *et al.*, 2007), surge como padrão predominante em 20% dos casos (Miller *et al.*, 2013).

A biópsia cutânea pode indicar imunossupressão caso sejam demonstradas elevadas concentrações de ácaros e furunculose com uma resposta celular mínima ou ausente, ou ainda se não estiverem presentes eosinófilos. Contudo, não permite a diferenciação entre DL e DG, nem informa sobre a probabilidade de resolução espontânea (Miller *et al.*, 2013).

6.4. Outros métodos de diagnóstico

A partir do exame directo de pústulas podem ser encontrados ácaros *Demodex*. O procedimento começa por puncionar as pústulas (escolher as que estiverem intactas) com uma agulha, pressionando, de seguida, com a lâmina de vidro contra o exsudado. Antes de colocar a gota de parafina líquida ou óleo mineral, deixar o conteúdo secar ligeiramente, mas sem manchar. Por fim, colocar uma lamela por cima e observar ao MO. A sensibilidade deste método é de 99% (Mueller *et al.*, 2012; Hill, 2002).

A utilização de fita adesiva de acetato para a recolha de ácaros é outro método para diagnosticar DC. Este foi recentemente estudado por Pereira, Pereira, Gremião, Campos, & Ferreira, (2012), que compararam as raspagens profundas com a utilização das fitas adesivas de acetato, obtendo uma sensibilidade de 100% para o método da fita adesiva e de 90% para as raspagens profundas. No entanto, noutro estudo conduzido por Cury *et al.* (2013), no qual este método foi comparado com o tricograma, a sua sensibilidade foi mais baixa (75%). Assim, estudos adicionais são necessários para melhor determinar a sensibilidade desta técnica. Para além disso, seria interessante avaliar a capacidade deste método detectar ácaros *Demodex* durante as consultas de seguimento, ou seja, a sua capacidade de monitorização da doença, o que não foi realizado nestes estudos. Esta técnica de diagnóstico apresenta as seguintes vantagens: não é dolorosa nem traumática e consequentemente é melhor aceite pelos animais e pelos seus donos, é fácil de utilizar em zonas difíceis de raspar como os espaços interdigitais, patas, comissuras labiais ou a zona periocular (Pereira *et al.*, 2012). Realiza-se facilmente, bastando colocar a fita adesiva sobre a lesão escolhida, espremer a pele, remover a fita e colocá-la directamente numa lâmina de microscópio para observação (Pereira *et al.*, 2012).

Quando a demodicose é complicada por piodermite bacteriana profunda surgem tractos fistulosos com exsudados sanguíneo-purulentos que podem conter ácaros. Deste modo, a

microscopia de exsudado é outra forma de diagnóstico. Depois de remover as crostas gentilmente e espremer, uma lâmina de vidro é aplicada sobre a zona para que se possa realizar um esfregaço com o material que sofreu extrusão (Madeira de Carvalho, 2000). Em alternativa, o exsudado pode ser recolhido com a parte romba de uma lâmina de bisturi e colocado numa lâmina de microscópio com parafina líquida ou óleo mineral (Saridomichelakis *et al.*, 2007). Segundo estes últimos autores, apesar de este método causar menos desconforto do que as raspagens profundas e ter detectado pelo menos um ácaro em cada amostra, revelou um menor número de ácaros encontrados por amostra. As biópsias de superfície são uma técnica realizada através da aposição de uma gota de cianoacrilato (supercola) numa lâmina de microscópio, a qual é depois colocada sobre a pele a analisar. No estudo de Bensignor, (2003), que compara estas últimas com as raspagens profundas e com o tricograma, as biópsias de superfície revelaram uma sensibilidade menor que os outros dois (38% *versus* 40% para o tricograma e 100% para a raspagem profunda). Estes resultados podem ser explicados pela localização profunda do ácaro que não é atingida pela biópsia, por um tempo de contacto insuficiente (30 segundos) ou pela presença de escamas ou espessamento cutâneo que impedem o contacto com camadas mais profundas. Assim, o interesse deste método para o diagnóstico de DC é questionado (Bensignor, 2003).

Uma outra técnica recente é o PCR em tempo real. Considerando os estudos já realizados sobre a prevalência de ácaros *Demodex* em cães saudáveis, esta foi a técnica que detectou um maior número de cães positivos, resultando numa prevalência de 17,6% (Ravera *et al.*, 2011).

Na otodemodicose, os ácaros podem ser visualizados através de um esfregaço do material auricular misturado com uma gota de óleo mineral (Noli, 2011).

Por último, se os cães afectados manifestarem linfadenopatia, poderão eventualmente ser encontrados ácaros através da punção de linfonodos (Mueller *et al.*, 2012).

6.5. Análises laboratoriais

Deve ser realizada uma avaliação com hemograma, perfil bioquímico, urianálise, exame fecal para helmintes e pesquisa de *Dirofilaria* sp. em todos os cães com mais de dois anos com DG, e ainda em cães que não responderam ao tratamento ou que sofreram recidivas (Leitão & Leitão, 2008). Em cães com demodicose adulta, para além destes exames, deve ser pesquisada a causa subjacente ao desenvolvimento de DC, pelo que devem ser realizados testes de função da tiróide e das glândulas adrenais, assim como radiografias torácicas e abdominais (Craig, 2003). A pesquisa de leishmaniose deverá ser realizada sobretudo nas zonas endémicas (Leitão & Leitão, 2008).

Na maioria dos cães jovens, as análises clínicas de rotina não são úteis pois não apresentam alterações (Gortel, 2006). No entanto, nalguns casos podem ser encontradas alterações como anemia devida a doença crónica, leucocitose, hiperglobulinémia e diminuição dos valores basais da hormona tiroideia. Esta diminuição da hormona tiroideia surge devido à DC e não como sua causa subjacente, o que pode ser explicado pela síndrome do eutiroides doente (condição na qual doenças extra-tiroideas influenciam a concentração das hormonas da tiroide). Em cães adultos, se os níveis basais de hormonas da tiroide estiverem diminuídos, é aconselhável realizar testes de função da tiroide, uma vez que o hipotireoidismo pode desencadear a demodicose. Da mesma forma, um aumento das enzimas hepáticas deve levar à realização de testes de função adrenal para pesquisa de hiperadrenocorticism (Miller *et al.*, 2013).

Em situações com piodermite grave activa pode surgir leucocitose ligeira, aumento das proteínas totais e das globulinas (principalmente IgG) e complexos imunes circulantes (Nesbitt & Ackerman, 1998).

Em mais de 50% dos casos não é possível encontrar uma doença associada à DC no momento do seu diagnóstico, sendo assim necessário manter uma monitorização próxima, até porque esta pode surgir após semanas ou meses de tratamento (Miller *et al.*, 2013). Convém não esquecer a importância da história pregressa, onde a utilização de fármacos imunossupressores pode constituir a causa da DC em cães adultos (Gortel, 2006).

7. Diagnóstico diferencial

A DC não é difícil de diagnosticar uma vez que, na maioria dos casos, as raspagens cutâneas profundas correctamente executadas, facilmente revelam ácaros. No entanto, pode acontecer que as raspagens não sejam realizadas devido a um índice de suspeita baixo (Gross *et al.*, 2005).

Os principais diagnósticos diferenciais são piodermite superficial ou profunda (provocadas principalmente por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus pseudintermedius*), dermatofitose, hipersensibilidade (dermatite por alergia à picada de pulga, hipersensibilidade alimentar, atopia, dermatite de contacto) e doenças imunomediadas (complexo *pemphigus*, lúpus eritematoso sistémico, dermatomiosite facial) (Miller *et al.*, 2013; Rhodes & Werner, 2011; Medleau & Hnilica, 2006).

Para além das doenças acima mencionadas, a DL pode ser confundida com abrasões superficiais e menos frequentemente, com a dermatomiosite canina familiar dos Collies e dos Pastores das Shetland. Caso estes últimos apresentem alopecia no focinho e patas e forem encontrados ácaros *Demodex*, a biópsia cutânea deve ainda assim ser realizada pois as duas doenças podem coexistir (Gross *et al.*, 2005). A foliculite ou furunculose e as lesões de celulite juvenil no focinho de cães jovens podem-se assemelhar à demodicose pustulosa,

assim como as pústulas localizadas no abdômen e face interna das coxas podem levar à suspeita de impetigo canino (infecção bacteriana superficial da pele) (Miller *et al.*, 2013). A leishmaniose também consta dos diagnósticos diferenciais e pode existir concomitantemente com a DC (Leitão & Leitão, 2008).

8. Tratamento

Deve sempre ser considerado o estado geral do paciente, ou seja, é importante manter uma nutrição adequada, realizar o controlo dos parasitas, do stress, de doenças sistémicas e piodermites bacterianas. Todos estes factores podem contribuir para a imunossupressão, tornando assim a DC mais difícil de tratar (Miller, 1995).

Da mesma forma que o prognóstico e evolução das formas localizada e generalizada são diferentes, também a sua abordagem terapêutica difere (Corrales *et al.*, 1999). Porém, alguns princípios gerais são comuns, tais como o uso de fármacos imunossupressores, que está contraindicado em todas as formas de DC (Craig, 2003).

Para prevenir o aumento da incidência da DC e evitar recaídas nas fêmeas, é aconselhado que os cães afectados sejam esterilizados (Mueller *et al.*, 2012). Porém, este assunto não é consensual, havendo autores que afirmam que nos casos de DL não existe necessidade de esterilização (Ghubash, 2006). No entanto, como a definição de DL e DG é um pouco subjectiva e não existe uma base científica para uma diferenciação clara e consistente, idealmente, todos os cães afectados devem ser esterilizados. Contudo, se esta opção for “impossível” para os criadores, está aconselhado basear a decisão no tratamento. Se existir necessidade de tratamento acaricida, o animal não deve ser reproduzido (Mueller *et al.*, 2012).

8.1. Forma localizada

O tratamento acaricida não está indicado na DL por várias razões: geralmente esta resolve-se espontaneamente em 6 a 8 semanas; não existe diferença na evolução entre casos tratados e não tratados, assim como não existe evidência que o tratamento previna a sua progressão para a forma generalizada; pode conduzir ao desenvolvimento de resistências por parte dos ácaros *Demodex* e ainda porque a abstenção do tratamento permite diferenciar os pacientes cuja doença iria progredir para a forma generalizada, o que pode ser útil caso estes cães se encontrem em programas de reprodução, permitindo assim a sua exclusão (Miller *et al.*, 2013; Noli, 2011).

Se for desejada uma intervenção terapêutica, pode ser utilizado o peróxido de benzoílo. Este deve ser aplicado no sentido de crescimento do pêlo, uma vez ao dia durante 3 a 7 dias (Miller *et al.*, 2013) ou segundo Mueller *et al.* (2012) em champô uma a duas vezes por semana. Pode ainda ser utilizada uma solução cutânea de benzoato de benzilo, existente

em Portugal com o nome comercial Acarilbial®. O proprietário do animal deve ser informado que, após a aplicação desta medicação, as lesões podem piorar durante 2 a 3 semanas, o que não afecta a evolução da doença (Miller *et al.*, 2013). Nos EUA uma pomada e champô de rotenona estão licenciados para o tratamento de DL (Craig, 2003).

Na reavaliação após 4 semanas, se as lesões se mantiverem estáticas ou em resolução, o paciente deve continuar sem tratamento acarida. Se, pelo contrário, surgirem novas lesões, as antigas progredirem e/ou as contagens de ácaros aumentarem, a doença deve ser considerada como generalizada, recebendo, assim, tratamento acaricida (amitraz ou lactonas macrocíclicas) (Hill, 2002).

8.2. Forma generalizada

A DG é uma das doenças cutâneas mais graves e frustrantes de tratar, pelo que, antigamente, a eutanásia era um procedimento comum nos cães afectados (Verde, 2005). Actualmente, como existem mais opções disponíveis, o prognóstico melhorou drasticamente, no entanto, o tratamento continua a ser desafiante pois não existe nenhum 100% eficaz (Ihrke, 2005). Cerca de 90% dos pacientes atingem a cura, o que pode demorar até 12 meses. Porém, normalmente, a remissão clínica e microscópica é atingida em cerca de 2 a 4 meses (Mueller, 2004). A principal justificação para o insucesso terapêutico é a paragem precoce do tratamento (Miller *et al.*, 2013; Mota, 2010). Assim, é necessário continuá-lo até um mês após obter as segundas raspagens negativas, as quais são intervaladas das primeiras raspagens negativas por um mês (Mueller *et al.*, 2012). Note-se que a cura clínica antecede a cura parasitológica em semanas a meses, ou seja, os sinais clínicos desaparecem antes de serem obtidas raspagens cutâneas negativas. Num estudo realizado por Mota (2010) 11 num total de 20 pacientes não regressaram sequer à primeira consulta de monitorização do tratamento. Por estas razões, é muito importante que os donos compreendam as implicações da terapêutica da DG, nomeadamente que é necessário continuar o tratamento após a cura clínica. Na DA pode não haver sucesso terapêutico devido a doenças sistémicas subjacentes. A sua resolução pode permitir a recuperação espontânea ou uma melhor resposta ao tratamento (Miller *et al.*, 2013).

Nem sempre é necessário recorrer ao tratamento acaricida na DG pois existem casos de cura espontânea. Scott (2012) avaliou os dados de 8 cães com DG menores de um ano de idade e que não receberam tratamento acaricida. A DG curou espontaneamente em todos, sendo a duração da doença 4 a 10 meses. O período de seguimento variou de 4 a 48 meses e nenhum dos cães teve recaídas. No entanto, como apontou Mueller (2008), continuam a não existir estudos científicos de larga escala sobre este assunto. Nestes cães com menos de um ano, se após 4 a 6 semanas de observação, as lesões piorarem e as contagens de ácaros se mantiverem semelhantes ou aumentarem, a cura espontânea é improvável e o

tratamento acaricida deve ser iniciado. Cães com mais de um ano de idade ou com a forma adulta da DG necessitam de tratamento acaricida (Miller *et al.*, 2013).

Se, durante a monitorização, não forem observadas melhorias clínicas nem a diminuição do número de ácaros, especialmente das formas imaturas, o tratamento deve ser alterado. Esta mudança pode levar a melhorias e mesmo à remissão em cerca de 70% dos casos em que não houve uma boa resposta ao tratamento (Mueller, 2004).

O tratamento da DG assenta na utilização de acaricidas como o amitraz e as lactonas macrocíclicas (ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina ou doramectina). Apenas a milbemicina oxima e a moxidectina, ou seja, apenas as milbemicinas, estão licenciadas para o tratamento da DG, pelo que o proprietário deve autorizar a utilização dos outros fármacos (Apifarma, 2014; Leitão & Leitão, 2008). Na Tabela 2 pode ser consultada a comparação entre a estimativa dos preços dos fármacos mais utilizados para o tratamento de DG, os quais foram baseados no preço do Hospital Escolar da FMV-UL. Verifica-se que a administração de comprimidos de milbemicina oxima são a opção mais dispendiosa, enquanto o frasco de amitraz é a mais económica.

Tabela 2. Estimativa do preço dos tratamentos de DG mais comuns para um cão de 10 kg durante 4 meses de tratamento.

	Amitraz	Ivermectina	Moxidectina	Milbemicina Oxima	
Nome comercial	Taktic [®] 12,5%	Ivomec [®] 1%	Advocate [®]	Interceptor [®]	Milbemax [®]
Dose recomendada	0,05%	0,5 mg/kg/dia	1 pipeta 10 - 25kg / semana	1 mg/kg/dia	1 mg/kg/dia (5-25mg/kg praziquantel)
Quantidade necessária	◦ 4 ml Taktic [®] : 1L água / semana ◦ 64 ml no total	◦ 0,5 ml/dia ◦ 61 ml no total	◦ 16 pipetas no total	◦ 1 cp de 11,5 mg ou ½ cp de 23 mg ◦ 122 cp 11,5 mg ou 61 cp 23 mg no total	◦ 1 cp de 12,5 mg ◦ 122 cp no total
Preço	◦ 9,2 € / frasco de 100 ml	◦ 0,92 € / ml ◦ 56,1 € no total	◦ 23,3 € / 3 pipetas ◦ 139,7 € no total	◦ 25€ / 6 cp de 11,5 mg → 508,3 € ◦ 27€ / 6 cp de 23 mg → 274,5 €	◦ 2,30 € / cp ◦ 280,6 € no total

8.2.1. Amitraz

O amitraz, N'-(2,4-dimetilfenil)-N-[[(2,4-dimetilfenil)imino]metil]-N-metilmetanidamida, é um acaricida agonista α_2 -adrenérgico da família das formidinas, que inibe as monoamina oxidases e a síntese de prostaglandinas (Mueller, 2004). Em Portugal, existe na forma comercial Taktic[®], no entanto, a sua utilização só está licenciada para animais de pecuária (Apifarma, 2014).

8.2.1.1. Indicações de utilização

Deve ser aplicado topicamente após a diluição aquosa da emulsão comercial. De modo a maximizar os resultados, é imperativo seguir as seguintes orientações:

1. Nos cães com pêlo médio a longo, este deve ser rapado para permitir um melhor contacto da solução de amitraz com a pele e a sua penetração nos folículos pilosos.
2. As crostas devem ser removidas. Nalguns casos, devido à dor, pode ser necessário recorrer à tranquilização ou anestesia do paciente. Os agonistas α_2 -adrenérgicos (como a xilazina e medetomidina) devem ser evitados devido à actividade sinérgica com o amitraz. Este procedimento deve ser repetido sempre que necessário ao longo do tratamento (Miller *et al.*, 2013). Se existir piodermite profunda grave, esta deve ser tratada antes dos banhos com amitraz (Plumb, 2008).
3. Toda a superfície corporal deve ser lavada com um champô antibacteriano e anti-seborreico que também actua na remoção de crostas e exsudados. A imersão em banheiras de hidromassagem ou com algum fluxo de água é benéfica. Apesar de a pele ficar com um aspecto irritado depois deste procedimento, o amitraz pode assim contactar melhor com a pele. Este banho pode ser efectuado antes da aplicação da solução de amitraz ou no dia anterior.
4. A solução de amitraz deve ser aplicada com uma esponja em todo o corpo, incluindo as zonas não afectadas, mas excluindo os olhos e as membranas mucosas (Miller *et al.*, 2013). Pode ser aplicada uma pomada oftálmica para protecção ocular (Leitão & Leitão, 2008). Se existir pododermatite, as extremidades podais devem ficar submersas e ser gentilmente massajadas para facilitar a penetração. Após a aplicação deve-se deixar secar ao ar, sem enxaguar, pois o amitraz deve permanecer na pele durante 2 semanas. O proprietário deve estar atento para não permitir que o cão lamba a solução. Se a pele se molhar, a aplicação seguinte pode ser antecipada (Miller *et al.*, 2013; Hill, 2002). Nalgumas pessoas pode surgir dermatite de contacto, enxaquecas ou ataques de asma, pelo que devem ser utilizadas luvas de protecção, máscaras e a área deve ser bem ventilada (Miller *et al.*, 2013).
5. A solução de amitraz deve ser utilizada imediatamente após a sua preparação. Devido à oxidação e acção dos raios ultravioleta, o amitraz degrada-se em N-metilformamidina, um

composto mais tóxico que o original (Nesbitt & Ackerman, 1998). Para além disso, deve ser armazenada num recipiente opaco bem fechado e ao abrigo da luz (Leitão & Leitão, 2008). Em pacientes com pododemodicose ou otodemodicose a solução aquosa pode não ser tão eficaz, pelo que, nestes casos, pode-se optar pela utilização do amitraz em óleo mineral ou parafina líquida (0,13%, 0,5% ou 2% de amitraz) por via tópica, diariamente ou a cada 3 dias (Mueller, 2004). No entanto, esta solução pode provocar irritação do epitélio auricular, pelo que pode ser necessário considerar a utilização de lactonas macrocíclicas nestes casos (Singh *et al.*, 2011).

8.2.1.2. Protocolos de tratamento

As concentrações recomendadas de amitraz variam entre 0,025 a 0,06% e a frequência de aplicação pode ir desde uma vez por semana até a cada 2 semanas (Mueller *et al.*, 2012). Os protocolos de tratamento aprovados variam consoante o país em questão, sendo assim necessário que o clínico consulte as diretrizes do seu país. Nos Estados Unidos e Canadá está disponível como Mitaban® e foi licenciado para utilização numa concentração de 0,025% a cada 2 semanas (Miller *et al.*, 2013). Já em França, a concentração de amitraz varia entre 0,025 a 0,05% a cada 5-7 dias (Hugnet, Bruchon-Hugnet, Royer, & Bourdoiseau, 2001). No Reino Unido, o Aludex® é utilizado com uma diluição de 0,05% e na frequência inicial de uma vez por semana (Craig, 2003). Para preparar esta solução é necessário juntar 50 ml de Aludex® com 5 L de água, formando-se uma diluição de 1:100, equivalente a 500 ppm (Hill, 2002).

O período de tempo necessário para observar uma boa resposta ao amitraz varia entre 6 semanas a 6 meses, sendo que os casos mais difíceis de tratar são os de demodicose adulta e pododemodicose (Nesbitt & Ackerman, 1998). A taxa de sucesso no tratamento da DA recorrendo ao amitraz é cerca de 30%. Em geral, a taxa de recorrência é de 11% (Mueller, 2004).

Infelizmente, nem todos os cães respondem aos protocolos de tratamento aprovados, pelo que pode ser necessário recorrer a um aumento da concentração ou da frequência de aplicação. Deste modo, pode-se conseguir uma taxa de sucesso mais elevada (Miller *et al.*, 2013; Mueller, 2004). A aplicação diária de amitraz numa concentração de 0,125% em zonas alternadas do corpo, foi registada como sendo eficaz para 73% de 32 cães com DG resistente ao tratamento convencional (Medleau & Willemse, 1995). Noutro estudo conduzido por Hugnet *et al.* (2001) concluiu-se que a aplicação de amitraz a 1,25% semanalmente foi eficaz na cura de 8 cães previamente refractários ao tratamento. Para minimizar os efeitos adversos foram adicionados dois antídotos, o atipamezol como pré-medicação na dose 0,1 mg/kg via intramuscular e a ioimbina também na dose 0,1 mg/kg por via oral, uma vez por dia. Apesar de as taxas de cura serem mais elevadas com estes

protocolos alternativos, cerca de 20% dos cães não atingem raspagens cutâneas negativas ou sofrem recaídas quando o tratamento é interrompido. Assim, alguns casos requerem um tratamento a cada 2 a 4 semanas para o resto da vida (Scott *et al.*, 2001).

8.2.1.3. Efeitos secundários

À medida que a concentração aumenta, aumentam os efeitos secundários. No entanto, na maioria das vezes, com concentrações menores que 0,125%, estes são transitórios e de baixa frequência (Miller *et al.*, 2013). Os efeitos secundários do amitraz são prostração, sedação, sonolência, bradicardia, ataxia, diminuição da temperatura rectal, hiperglicémia, polifagia, polidipsia, vômito e diarreia (Mueller, 2004). Pode surgir um efeito sedativo transitório durante 12 a 24 horas e alguns cães manifestam prurido, especialmente após a primeira aplicação. Reacções alérgicas como urticária e edema são raras (Miller *et al.*, 2013). Na concentração 1,25% foram observados eritema, descamação e odor desagradável durante 2 a 6 dias após o banho (Hugnet *et al.*, 2001). Os efeitos secundários ocorrem com maior frequência em cachorros com menos de 4 anos, cães geriátricos ou debilitados e em raças miniatura (Nesbitt & Ackerman, 1998). Nestes casos, a concentração de amitraz deve ser diminuída para metade ou um quarto da original (Ghubash, 2006). O contacto com o paciente logo após o tratamento deve ser evitado (Leitão & Leitão, 2008). Está contra-indicado em proprietários e cães diabéticos, em pessoas com problemas respiratórios, gatos, Chihuahuas, cadelas gestantes e lactantes e em cães com menos de 3 meses (Ramsey, 2011). Não deve ser administrado a pacientes que estejam a tomar outros fármacos inibidores das monoamina oxidases. O atipamezol (50 µg/kg IM) e a ioimbina (0,11 mg/kg IV ou 0,25 mg/kg IM) podem ser utilizados como pré-medicação em cães que manifestaram reacções adversas anteriormente ou como antídotos (Ihrke, 2009).

8.2.1.4. Tratamento com outras formulações de amitraz (coleira e unção punctiforme)

O sucesso do tratamento com coleiras de amitraz (Preventic®) é discutível. Segundo alguns autores, uma coleira com 9% de amitraz pode ser eficaz em cães com um peso menor ou igual a 20kg. A região do pescoço deve ser tosquiada e o colar deve ser substituído a cada 2 semanas. Em cães pequenos, a utilização da coleira como único método de tratamento pode ser tão eficaz como a ivermectina (0,6 mg/kg/dia PO) e o uso combinado da coleira e da ivermectina é mais eficaz do que cada um isoladamente (Medleau & Hnilica, 2006). Contudo, em geral esta forma não é recomendada (Miller *et al.*, 2013) e nas últimas diretrizes sobre o tratamento de DC, Mueller *et al.* (2012) não recomendam esta formulação devido a falta de evidências a seu favor.

Em 2007 foi introduzido no mercado a unção punctiforme Promeris Duo® embora por razões não especificadas, a sua distribuição tenha sido recentemente descontinuada. Com 15% de

amitraz e 15% de metaflumizona, este fármaco estava indicado para o tratamento de ectoparasitas (pulgas, piolhos, carraças e *Demodex* spp.) com aplicação mensal. Os estudos realizados por Fourie, Kok, du Plessis, & Rugg, 2007; Tarallo, Lia, Sasanelli, Cafarchia, & Otranto, 2009 e Rosenkrantz, 2009 apontaram para bons resultados, no entanto, foram reportadas reacções cutâneas do tipo pênfigo foliáceo, para as quais alguns cães necessitaram de tratamento imunossupressor (Oberkirchner, Linder, Dunston, Bizikova, & Olivry, 2011). Devido a estas reacções, Mueller *et al.* 2012 aconselharam que este produto não fosse utilizado com frequência, mas sim, reservado para casos refractários.

Uma outra unção punctiforme chamada Certifect[®] que combina 6,26% fipronil, 7,48% amitraz e 5,63% S-methoprene, foi estudada para o tratamento da DG por Fourie, Dumont, Halos, Beugnet, & Pollmeier (2013). Revelou elevadas taxas de cura em 18 cães, tanto com aplicações mensais como a cada 2 semanas, sem registo de efeitos adversos. Por sua vez, esta última não está licenciada para o tratamento da DC (Apifarma, 2014).

8.2.2. Lactonas macrocíclicas

As lactonas macrocíclicas utilizadas na terapêutica da DC englobam as avermectinas (ivermectina e doramectina) e as milbemicinas (milbemicina oxima e moxidectina) e são agentes antiparasitários que resultam da fermentação de vários actinomicetos. Estes fármacos ligam-se selectivamente e com elevada afinidade aos canais cloro-glutamato e ácido gama-amino-butírico (GABA) existentes nas junções neuromusculares dos artrópodes e a interneurónios e neurónios motores do cordão nervoso ventral de nemátodes, o que resulta num aumento da permeabilidade celular para os iões cloreto e consequentemente num bloqueio neuromuscular, que leva a paralisia e morte do parasita. Estes compostos têm uma elevada margem de segurança em mamíferos pois o seu sistema nervoso periférico não possui canais cloro-glutamato. Para além disso, o GABA é um neurotransmissor central e estes fármacos não cruzam facilmente a barreira hematoencefálica (Bissonnette, Paradis, Daneau, & Silversides, 2009; Mueller, 2004).

Algumas das vantagens apresentadas por estes fármacos em relação ao amitraz são a via de administração, o tratamento poder ser iniciado mesmo com a presença de piodermite secundária grave, a toma de banhos frequentes não interferir com a terapêutica e o menor risco de sedação e efeitos secundários para o proprietário que administra o fármaco. Uma desvantagem é que os efeitos secundários das avermectinas, apesar de raros, podem ser graves e não existem antídotos específicos. Para além disso, nalguns casos o preço também pode ser uma desvantagem, principalmente em cães de grande porte (Tabela 2) (Gortel, 2006).

A utilização das lactonas macrocíclicas está indicada para quando existe resistência ao tratamento com amitraz, quando as reacções adversas deste último não podem ser toleradas ou quando a sua aplicação é problemática para os donos (Leitão & Leitão, 2008). Antes da administração de lactonas macrocíclicas deve ser realizado o rastreio de dirofilariose, uma vez que, devido às suas propriedades microfilaricidas, podem causar choque anafilático em cães afectados (Plumb, 2008). A sua utilização concomitante com fármacos que podem provocar a inibição da P-glicoproteína (como itraconazol, cetoconazol, ciclosporina, verapamil) ou benzodiazepinas deve ser realizada com cuidado pois a neurotoxicidade das lactonas macrocíclicas pode ser potenciada (Koch, Torres, & Plumb, 2012).

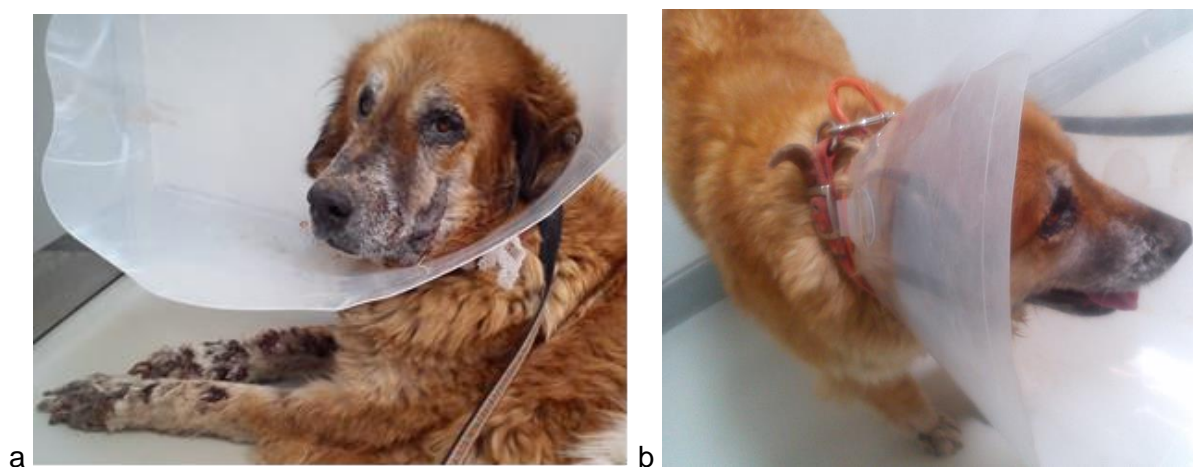
8.2.2.1. Ivermectina

A ivermectina resulta da fermentação de *Streptomyces avermitilis* e a sua utilização em pequenos animais está licenciada apenas para a prevenção de dirofilariose, numa dose mensal de 0,006 mg/kg. Porém, pode-se recorrer à utilização *extra-label* de soluções para bovinos, como o Ivomec® 1% (Apifarma, 2014).

Pode ser utilizada para o tratamento da DG na concentração 0,3 a 0,6 mg/kg/dia *per os* (Mueller, 2004; Mueller *et al.*, 2012). Devido ao potencial para efeitos secundários neurológicos em determinadas raças sensíveis, é aconselhado realizar um aumento gradual da dose. Assim, deve-se começar por 0,05 mg/kg no 1º dia, aumentando para 0,1 mg/kg no 2º dia, 0,15 mg/kg no 3º dia, 0,2 mg/kg no 4º dia e por fim, 0,3 mg/kg no 5º dia. Para aumentar mais a dose, é aconselhado um incremento de 0,1 mg/kg por dia (Mueller *et al.*, 2012). Antigamente, a ivermectina era administrada por via SC na dose 0,4 mg/kg, no entanto, os resultados eram variáveis e inconsistentes (Mueller *et al.*, 2012). A administração tópica também não é uma opção. De acordo com o estudo de Paradis e Pagé (1998), a aplicação de ivermectina em unção contínua no dorso de cães com DG, 3 vezes por semana, numa dosagem de 1,5 mg/kg, resultou em cura parasitológica apenas em 2 cães, de um total de 12.

O tempo médio até a primeira raspagem cutânea negativa é cerca de 6,5 a 28 semanas, enquanto a duração média do tratamento varia entre 10 a 33 semanas (Mueller, 2004). A taxa de sucesso é cerca de 85% (Mueller, 2004; Ristic, Medleau, Paradis, & White-Weithers, 1995). Na Figura 9 pode ser visualizada a evolução de um caso clínico acompanhado durante o estágio curricular, no qual foi escolhida esta opção como terapêutica, verificando-se melhorias clínicas ligeiras após 3 semanas e melhorias mais evidentes após 3 meses.

Figura 9. Paciente tratado com ivermectina (0,6 mg/kg/dia) e antibioterapia PO, sendo (a) antes do tratamento e (b) 3 meses após início da terapêutica (fotografias originais).



Os pacientes tratados com ivermectina devem ser monitorizados cuidadosamente quanto a sinais de neurotoxicidade como letargia, tremores, ataxia e midríase. Apesar de raros, podem-se desenvolver até 10 semanas após o início do tratamento, o que se deve ao efeito cumulativo deste fármaco (Hall & Keirstead, 2005; Mueller, 2004). Na presença de efeitos secundários, a administração de ivermectina deve ser descontinuada. Em alguns casos pode ser suficiente diminuir a dose, nomeadamente quando a toxicidade se desenvolve semanas após o início da terapêutica. Nos casos de toxicidade aguda, em que os efeitos secundários surgem dias após o início do tratamento, esta abordagem não é recomendada (Mueller *et al.*, 2012). A descontinuação do fármaco deve impedir a progressão dos sinais e levar ao seu desaparecimento dentro de 48 horas (Miller, 1995).

A toxicidade aguda neurológica grave pode surgir raramente em cães de qualquer raça, no entanto, os Collies e outras raças de pastoreio como o Pastor das Shetland, Pastor Australiano, Bobtail e Border Collie, são particularmente sensíveis (Ihrke, 2005; Mueller, 2004). Esta sensibilidade está relacionada com uma mutação no *multidrug resistance gene* (*mdr1*) ou gene *ABCB1-D1*, de transmissão autossómica recessiva (Mealey, Bentjen, Gay, & Cantor, 2001). Esta mutação consiste numa deleção de 4-pb (pares de base) que gera um codão *stop* prematuro, resultando numa proteína (P-glicoproteína) truncada e não funcional (Hugnet, Bentjen, & Mealey, 2004). Esta P-glicoproteína, codificada pelo gene *mdr1*, tem como função essencial conferir resistência intrínseca a fármacos, ou seja, limita a absorção de xenobióticos através do intestino, promove a sua eliminação pela biliar, urina e fezes, e ainda, como parte integrante da barreira hematoencefálica, é crucial para limitar a sua entrada no sistema nervoso central (Geyer *et al.*, 2005). Assim, nos cães afectados por esta mutação, ocorre uma acumulação de ivermectina no cérebro que leva ao desenvolvimento de sinais neurológicos. Os cães que demonstram a sensibilidade à ivermectina são os

homozigóticos para o alelo mutante (*mdr1* mutante/mutante), os heterozigóticos (*mdr1* selvagem/mutante) poderão ser sensíveis e os homozigóticos para o gene normal (*mdr1* selvagem/selvagem) não são sensíveis (Mealey *et al.*, 2001). Para além das raças acima referidas, foram documentadas mutações no gene *mdr1* nos Pastores Alemães, Pastores Brancos Suíços, Pastor Inglês, Whippets de pêlo comprido e Silken Windhounds (Geyer *et al.*, 2005; Neff *et al.*, 2004). Diversos estudos determinaram a frequência do alelo *mdr1* em Collies: 51% nos EUA, 60% no Reino Unido (Neff *et al.*, 2004), 56% no noroeste dos EUA (Mealey, Bentjen, & Waiting, 2002), 64% em França (Hugnet *et al.*, 2004), 56% na Austrália (Mealey, Munyard, & Bentjen, 2005) e 59% na Alemanha (Gramer *et al.*, 2011). Em geral, é considerado que cerca de 75% dos Collies são homozigóticos ou portadores deste alelo mutante (Ihrke, 2005). Para além da ivermectina, existem outros substratos da P-glicoproteína, como a ciclosporina ou o cetoconazol que, se administrados concomitantemente, podem aumentar a incidência de efeitos secundários (Mueller *et al.*, 2012).

Existem testes disponíveis para detectar esta mutação, contudo, num estudo realizado por Bissonnette *et al.* (2009), 27 de um total de 28 cães de raças consideradas não sensíveis que apresentavam neurotoxicidade subcrónica (definida como sinais que ocorreram a partir dos 4 dias após o início da terapêutica) provocada por lactonas macrocíclicas (ivermectina em 25 cães e outras lactonas macrocíclicas nos restantes), revelaram um gene ABCB1 normal. Estes resultados sugerem a existência de mecanismos alternativos para a neurotoxicidade subcrónica. De qualquer maneira, quando for possível, as raças de risco suspeitas devem ser testadas para a mutação do gene ABCB1-D1, ou então, outros protocolos terapêuticos devem ser preferidos (Mueller *et al.*, 2012).

8.2.2.2. Milbemicina oxima

A milbemicina oxima é o produto resultante da fermentação de *Streptomyces hygroscopus aureolacrimosus* (Mueller, 2004). Existe em Portugal nas formas comerciais Milbemax® (praziquantel e milbemicina oxima), Trifexis® (spinosad e milbemicina oxima) e Interceptor®. Apenas este último está licenciado para o tratamento da DG numa dose diária de 0,5 a 1 mg/kg, que pode ser aumentada até 1 a 2 mg/kg caso seja necessário (Apifarma, 2014). O tempo necessário até obter raspagens cutâneas negativas é cerca de 8 a 26 semanas, a duração do tratamento varia entre 12 a 30 semanas (Mueller, 2004) e a taxa de cura clínica situa-se entre 15 a 92%, dependendo da dose utilizada e idade do cão afectado (Miller *et al.*, 2013). O sucesso terapêutico diminui na DA e em geral, aumenta com doses mais elevadas, no entanto, como comprovado pelo estudo de Holm (2003), podem ser observados bons resultados com as doses mais baixas (0,5 a 1 mg/kg) em cães não tratados previamente (Mueller, 2004). A taxa de recorrência é cerca de 20% (Mueller, 2004).

Os efeitos secundários são raros e podem incluir vômitos, diarreia, sonolência, ataxia, estupor e tremores transitórios (Apifarma, 2014). Podem ser resolvidos através da redução da dose e pela administração juntamente com comida (Nuttall *et al.*, 2009).

De acordo com vários estudos, em Collies e em raças de pastoreio, este fármaco é mais seguro do que a ivermectina, sendo assim o fármaco de eleição quando o amitraz falha (Ihrke, 2005). Com uma dose de 2,5 mg/kg/dia durante 10 dias em 6 Collies não testados para a mutação no gene *mdr1*, não houve manifestações de efeitos secundários (Sasaki, Kitagawa, & Murase, 1990). Noutro estudo (Tranquilli, Paul, & Todd, 1991), com uma dose de 5 mg/kg, 2 em 5 Collies ivermectina-sensíveis desenvolveram uma ligeira depressão do SNC; com uma dose de 10 mg/kg, 6 horas após a administração de milbemicina, todos os cães desenvolveram ataxia e depressão ligeira, 2 desenvolveram midríase e 3 salivação. Nestes últimos, os sinais resolveram-se, no máximo, dentro de 2 dias. No estudo de Holm (2003) que envolveu 99 cães tratados com 0,5 a 1,6 mg/kg de milbemicina não foram registados efeitos secundários. Considerando ainda o estudo de Barbet, Snook, Gay, & Mealey (2009), no qual a milbemicina foi administrada na dose 1 a 2,2 mg/kg a uma população total de 22 cães, dos quais 15 eram raças de pastoreio e 2 apresentavam a mutação no gene *mdr1*. Não foram documentados efeitos secundários, excepto ataxia nas 2 raças que apresentavam a mutação. Deste modo, apesar da margem de segurança ser elevada (Mueller, 2004), é aconselhado testar o genótipo e utilizar doses mais baixas ou fazer um aumento gradual da dose (Mueller *et al.*, 2012).

Para além da segurança, este composto tem a vantagem de ser mais fácil de administrar pelo proprietário, aumentando a adesão à terapêutica. Porém, o seu preço é elevado, o que diminui a sua utilização, principalmente em raças de grande porte.

8.2.2.3. Moxidectina

A moxidectina deriva da nemadectina produzida pelo *Streptomyces cyaneogriseus* (Plumb, 2008). Considerando alguns estudos em que a moxidectina foi administrada com concentrações de 0,2 a 0,4 mg/kg/dia *per os*, conclui-se que, de 41 cães com a forma juvenil, 31 entraram em remissão após 8-14 semanas (7 foram perdidos durante o seguimento) e que, de 11 com demodicose adulta, 9 entraram em remissão após 8-16 semanas. Quanto a efeitos secundários, 2 desenvolveram ataxia e um desenvolveu letargia, inapetência e vômito. São necessários mais estudos com períodos de *follow-up* mais longos (Mueller, 2004). Para além dos efeitos secundários referidos, também pode surgir anorexia e estupor (Scott *et al.*, 2001). Tal como para as outras lactonas macrocíclicas, podem surgir reacções idiossincráticas em Collies (Verde, 2005), no entanto, no estudo de Paul, Tranquilli, & Hutchens (2000) a administração de uma dose até 30 vezes superior à recomendada em collies ivermectina-sensíveis não demonstrou efeitos secundários.

Concluindo, a moxidectina pode ser recomendada na dose acima referida, no entanto, é aconselhado um aumento gradual da dose, assim como uma monitorização cuidadosa (Mueller *et al.*, 2012).

Este fármaco está apenas licenciado para o tratamento da DC na forma de unção punctiforme, sob a forma comercial Advocate®. Assim, a sua administração oral pode ser conseguida através da utilização *extra-label* de Cydectin® 1%, uma solução injectável destinada a bovinos (Apifarma, 2014).

O Advocate® combina 2,5% de moxidectina com 10% de imidaclopride. Nos estudos iniciais (Fourie & Heine, 2005; Heine, Krieger, Dumont, & Hellmann, 2005) foi testada a aplicação mensal de Advocate® e foram obtidas elevadas taxas de sucesso terapêutico: 98% e 86,7%, respectivamente. No estudo de Heine *et al.* (2005) registou-se apenas um episódio de vômito num total de 30 cães. Mesmo em Colies ivermectina-sensíveis este composto parece ter elevada segurança, como demonstrado pelo estudo de Paul, Hutchens, Firkins, & Borgstrom (2004), no qual uma dose 5 vezes superior à recomendada não provocou efeitos secundários. No entanto, na prática clínica estes resultados não se comprovaram e os estudos mais recentes revelaram que o Advocate® é mais eficaz na demodicose juvenil, em formas ligeiras de doença e com intervalos de administração mais curtos (Mueller *et al.*, 2012). No estudo de Mueller, Meyer, Bensignor, & Sauter-Louis (2009), o Advocate® foi administrado a cada 2 semanas, o que resultou na remissão de 23 em 52 cães com DJ e apenas 3 em 20 com DA, sendo o tempo médio até à remissão de 12,5 semanas. Também noutro estudo em que foi comparada a aplicação de Advocate® a cada 28 dias durante 12 semanas, com a aplicação semanal durante 15 semanas, a eficácia após 27 dias foi de 34,6% para o grupo tratado mensalmente e 96% para o tratamento semanal (Fourie *et al.*, 2009). Outro estudo (Paterson *et al.*, 2009) foi realizado com o objectivo de comparar 4 protocolos diferentes ao fim de 4 meses de tratamento: administração oral de ivermectina 0,5 mg/kg/dia, aplicação de Advocate® mensal, a cada 2 semanas e semanal. Os melhores resultados surgiram com a ivermectina (98% de redução nas contagens de ácaros) e com o Advocate® semanal (89% de redução nas contagens de ácaros), o que, mais uma vez, demonstra um aumento da eficácia à medida que a frequência de aplicação aumenta. Nestes três últimos estudos não foram registados efeitos secundários.

Foi ainda estudada a aplicação de Advocate® semanal em casos de demodicose associada a hiperadrenocorticism, o qual foi eficaz (10 de 11 cães atingiram remissão sem recaídas após 12 meses) e seguro (Huang & Lien, 2013).

Concluindo, o Advocate® pode ser recomendado para aplicação semanal nos casos de demodicose juvenil e formas ligeiras da doença. Se não forem observadas melhorias após as primeiras semanas, deve-se optar por outro tratamento (Mueller *et al.*, 2012).

8.2.2.4. Doramectina

A doramectina tem sido reportada como eficaz para o tratamento de DC. Em Portugal, existe a solução injectável Dectomax[®] licenciada para espécies pecuárias (Apifarma, 2014).

A administração SC de 0,6 mg/kg semanalmente em 23 cães foi estudada por Johnstone (2002). Destes 23, 10 entraram em remissão, 7 tiveram recaídas após 1 a 24 meses (2 dos quais responderam ao tratamento repetido com doramectina) e 6 foram perdidos no seguimento. Demorou em média 8 semanas até serem obtidas raspagens negativas. Não foram observados efeitos secundários. Noutro estudo (Murayama, Shibata, & Nagata, 2010), com a administração da mesma dose por via oral, 72% dos 29 cães obtiveram raspagens cutâneas negativas. Também foram observadas recaídas. Em 2 cães que não melhoraram, aumentou-se a frequência de administração para 2 vezes por semana, no entanto, um deles (Golden Retriever) desenvolveu ataxia e, consequentemente, a dose foi diminuída para 0,3 mg/kg duas vezes por semana.

A percentagem de cura é cerca de 85%. Os efeitos secundários são pouco comuns, contudo podem incluir midríase, letargia, cegueira e coma (Medleau & Hnilica, 2006). Não deve ser utilizada em pacientes sensíveis à ivermectina (Gortel, 2006). Num estudo (Geyer *et al.*, 2007) em Pastores Brancos Suíços, dois cães desta raça foram tratados com 0,7 mg/kg de doramectina por via SC e desenvolveram sinais graves de neurotoxicidade. Isto levou os autores a analisar a frequência do alelo da mutação *mdr1* num total de 219 Pastores Brancos Suíços, concluindo que 13% da população possui este alelo: 5 eram homozigóticos para a mutação *mdr1*, 47 heterozigóticos e 167 não demonstraram alterações no gene *mdr1*. Tal como para as outras lactonas macrocíclicas, é recomendado realizar um aumento gradual da dose (Mueller *et al.*, 2012).

8.3. Outras opções de tratamento

O primeiro tratamento recomendado para a DC foi o organofosforado *ronnel*, no entanto, devido ao elevado potencial para efeitos secundários, já não é utilizado (Mueller, 2004). Outros fármacos testados foram a selamectina, lufenuron, deltametrina e closantel. A selamectina, numa dose oral de 24-48 mg/kg uma vez por semana ou duas vezes por mês revelou uma baixa taxa de sucesso (Schnabl *et al.*, 2010). Também a sua formulação em unção punctiforme (Stronghold[®]) se revelou ineficaz (Fisher & Shanks, 2008). O lufenuron (nome comercial Program[®]) inibe a síntese de quitina, o que poderia interferir com o ciclo de vida do *Demodex*, contudo, nos estudos realizados (Schwassmann, Kunkle, Hepler, & Lewis, 1997) este composto não teve sucesso. A deltametrina demonstrou 80% de eficácia na DL após 3 tratamentos, no entanto, não foi eficaz em nenhum caso de DG (Kamboj, Singh, Singh, Mohan, & Nauriyal, 1993). O closantel foi administrado semanalmente por via

SC, na dose 5 mg/kg na primeira injeção e 2,5 mg/kg nas restantes. De um total de 9 cães com DG, 6 entraram em remissão após 6 injeções (Losson & Benakhla, 1980).

Existem alguns tratamentos naturais, como alimentos com elevado teor de nutrientes, plantas e outros suplementos que ajudam a melhorar o sistema imunitário. Vegetais crus de folhas verdes (brócolos, agrião) podem ser adicionados à dieta pois aumentam os níveis de antioxidantes. Os suplementos com ómega-3 (óleo de peixe, óleo de linhaça e sementes de girassol) são importantes para ajudar a diminuir o prurido e reforçar a barreira cutânea. Foi demonstrado que o óleo de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) juntamente com o extracto de raiz de ashwaganda (*Withania somnifera*) é eficaz contra a DC (Singh *et al.*, 2011). Outros produtos, como uma mistura de alho em pó, *Hydrastis canadensis* e azeite podem ser aplicados directamente na pele. Também a aplicação de óleos vegetais (1 parte de óleo de neem, 1 parte de óleo de lavanda e 10 partes de óleo de amêndoa), retira o oxigénio aos ácaros, pelo que pode ser uma solução de lavagem eficaz. Outras plantas consideradas eficazes na DC são *Rumex crispus* (conhecida por labaga ou doca amarela), equinácea, calêndula e *Aloe vera* (Singh *et al.*, 2011). Um *spray* com preparações herbáceas (Pestoban®) utilizado em 14 cães com DG levou a raspagens negativas após 6 semanas (Mueller, 2004; Das, 1993). Quanto às preparações homeopáticas, 6 cachorros foram experimentalmente infectados com *Demodex canis* e tratados com *Sulfur* 200, *Hepar sulfur* 200 e *Psorinum* 200, contudo, nenhum demonstrou resolução clínica nem microscópica (Nayak, Tripathy, Dey, Biswal, & Parida, 1998). Pelo contrário, para outros autores, alguns tratamentos homeopáticos são considerados eficazes, como o *Sulphur*, *Psorinum* e *Silicea*. Um protocolo sugerido é a utilização do óleo de neem externamente e as preparações homeopáticas por via oral (Singh *et al.*, 2011).

Os imunoestimulantes como o levamisol, tiabendazol, *Propionibacterium acnes*, vitamina E e o muramil-dipéptido micobacteriano não permitem aumentar a taxa de cura (Scott *et al.*, 2001). No entanto, um fármaco imunológico composto por *Propionibacterium* e lipopolissacáridos de *E.coli* (Infermun®) administrado concomitantemente com o tratamento convencional de amitraz e champô de peróxido de benzoílo permitiu reduzir a sintomatologia e o período de recuperação, devido à sua acção positiva na estimulação e proliferação de macrófagos, activação da cascata de imunidade celular inespecífica e secreção de IL pró-inflamatórias (Calier, 2006). Recentemente, num estudo realizado por Pekmezci *et al.* (2014), a junção de parapoxvírus ovino inactivado com amitraz permitiu reduzir a duração do tratamento para 84,5 dias, comparando com os 104,3 dias de duração da terapêutica só com amitraz. Assim, os autores recomendam a administração de uma dose única de parapoxvírus ovino inactivado por via SC nos dias 0, 2 e 9, juntamente com a aplicação de amitraz numa concentração de 3 ml com 1 L de água a cada 5 dias durante pelo menos 80 dias.

Actualmente, de acordo com as diretrizes para o tratamento da DC (Mueller *et al.*, 2012) e considerando os estudos científicos publicados, não existe evidência suficiente para recomendar os colares de amitraz, closantel, deltametrina, vitamina E, preparações herbais e homeopáticas e o muramil-dipéptido. Para além disso, existe evidência contra a utilização de ivermectina em unção contínua ou injectável semanalmente, lufenuron, *ronnel*, selamectina oral e levamisol.

8.4. Tratamento de doenças concomitantes

O tratamento da DG é multifactorial pois para além do tratamento acaricida, pode ser necessário adicionar tratamento antimicrobiano, para endoparasitas e/ou para doenças sistémicas associadas (Mueller *et al.*, 2012).

Frequentemente a DG está associada a infecções bacterianas secundárias, que aumentam o prurido, a dor e o desconforto dos cães afectados (Gortel, 2006). Assim, quando surgem sinais como pápulas e pústulas, devem ser realizadas citologias cutâneas (Mueller *et al.*, 2012). A bactéria mais frequentemente envolvida é *Staphylococcus pseudintermedius*, para a qual está geralmente indicada a antibioterapia empírica durante 3 a 8 semanas (Mueller, 2004) com cefalexina (20-30 mg/kg BID), cefadroxil (20-30 mg/kg SID) ou amoxicilina/ácido clavulânico (15-25 mg/kg BID) (Noli, 2011). Também podem estar presentes bastonetes Gram negativos como *E.coli*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, particularmente em casos de furunculose (Mueller *et al.*, 2012). Esta última causa uma piodermite grave especialmente refractária na pododemodicose (Miller *et al.*, 2013). Se estes bastonetes forem observados na citologia ou em casos de insucesso terapêutico, está indicado realizar cultura bacteriana e testes de sensibilidade a antimicrobianos (Gortel, 2006; Mueller *et al.*, 2012).

O tratamento da piodermite deve ser ajustado consoante a gravidade e extensão da infecção bacteriana, ou seja, enquanto para a piodermite superficial o tratamento tópico pode ser suficiente, para as piodermes generalizadas ou profundas deve ser adicionada antibioterapia sistémica (Leitão & Leitão, 2008). Recentemente, Kuznetsova *et al.* (2012) estudaram a influência da antibioterapia sistémica no tratamento de cães com DG. Concluiu-se que os antibióticos orais, administrados em conjunto com ivermectina oral (0,6 mg/kg/dia após um aumento gradual na primeira semana) e com banhos semanais de peróxido de benzoílo, não alteraram a duração do tratamento, pelo que uma terapêutica acaricida intensiva juntamente com antibioterapia tópica pode ser suficiente, mesmo em cães com piodermite profunda secundária.

Para o tratamento tópico pode-se optar pelos champôs de clorhexidina (3-4%) ou de peróxido de benzoílo (2-3%), sendo este último o mais comum, pois apresenta uma actividade de *flushing*, ou seja, ajuda na expulsão do conteúdo dos folículos pilosos

(Mueller, 2004). Estes champôs têm a vantagem de remover os detritos e crostas que podem conter ácaros, exsudados e mediadores de inflamação e para além disso, apresentam uma actividade antibacteriana prolongada na pele (principalmente no caso do peróxido de benzoílo). A frequência dos banhos varia, sendo muitas vezes recomendada a aplicação semanal (Mueller *et al.*, 2012). Esta terapêutica anti-microbiana permite diminuir a irritação cutânea, a imunossupressão causada pela infecção e ainda, uma melhor penetração do acaricida tópico (Scott *et al.*, 2001). Deve ser prolongada até 1 a 2 semanas após a resolução clínica e microscópica da infecção (Mueller *et al.*, 2012).

O tratamento de dermatite secundária a *Malassezia* pode ser realizado com champô antifúngico ou por via sistémica através do itraconazol ou cetoconazol (Nuttall *et al.*, 2009). Como acima referido, é necessário cuidado na utilização destes antifúngicos concomitantemente com a ivermectina devido ao aumento do risco de neurotoxicidade (Koch *et al.*, 2012).

Caso exista prurido, a colocação de um colar isabelino ou de uma *t-shirt* pode ajudar no seu controlo, minimizando o auto-traumatismo. A utilização de anti-inflamatórios não esteróides permite reduzir a inflamação, a dor, o edema e também controlar o prurido. Em casos de prurido intenso podem-se adicionar anti-histamínicos (Leitão & Leitão, 2008).

Num estudo sobre os factores de risco relacionados com a DC (Plant *et al.*, 2011), a coccidiose e os nemátodes intestinais ocuparam o 2º e 4º lugar, respectivamente, na lista de factores de risco mais frequentes (não relacionados com a raça), precedidos pela piodermite bacteriana, sendo o 3º lugar ocupado pela pelagem curta. Estes resultados enfatizam, mais uma vez, a importância de um bom controlo de endoparasitas.

9. Monitorização terapêutica

A resposta ao tratamento é determinada pelas raspagens cutâneas profundas (Miller, 1995). De acordo com as diretrizes para o tratamento da DC (Mueller *et al.*, 2012), é recomendada a realização de 3 a 5 raspagens cutâneas profundas mensalmente ou a cada 2 a 4 semanas. O tratamento deve continuar até um mês após a segunda reavaliação negativa. Em casos graves acompanhados de uma resposta lenta ao tratamento, este poderá ser prolongado ainda mais tempo (Mueller *et al.*, 2012). Uma paragem precoce do tratamento pode levar a recidivas e resistência dos parasitas (Ghubash, 2006), apesar de esta nunca ter sido documentada (Mueller *et al.*, 2012).

Deve ser mantido um registo das contagens diferenciais de ácaros consoante a sua fase evolutiva (adultos, ninfas, larvas e ovos), assim como dos locais seleccionados para recolha de material (Mueller *et al.*, 2012) e do número de ácaros vivos encontrados, para assim monitorizar a resposta ao tratamento (Gross *et al.*, 2005). De um modo geral, se as contagens forem cada vez menores, o mesmo tratamento deve ser continuado. Se, pelo

contrário, estes valores aumentarem ou se mantiverem estáveis, é necessário modificar o tratamento (Miller, 1995). Outra forma de avaliar a resposta ao tratamento é através dos rácios de formas maduras e imaturas e de parasitas mortos e vivos, cujo aumento é sinal de resposta à terapêutica (Nesbitt & Ackerman, 1998). De acordo com Ghubash (2006), após 4 semanas deve ocorrer uma diminuição acentuada das contagens de ovos e formas juvenis e após 8 semanas, não devem existir ovos nem larvas e pelo menos 50% dos adultos devem estar mortos.

Nos estudos publicados, a taxa de cura clínica excede a taxa verdadeira de cura, com recidivas em cerca de 10 a 45% dos casos (Miller *et al.*, 2013). Assim, após o final do tratamento, os pacientes devem ser reavaliados após 2 meses, 6 meses e 12 meses (Ghubash, 2006). Se ocorrerem recidivas nos primeiros 3 meses após a paragem do tratamento, pode-se utilizar o mesmo tratamento, no entanto, este deve ser mais agressivo e a monitorização mais intensiva. Se um segundo tratamento falha ou a primeira recidiva ocorre 9 ou mais meses após o fim do tratamento, continuar o tratamento com o mesmo medicamento não será eficaz (Miller *et al.*, 2013; Miller, 1995). Segundo Miller (1995), se após a paragem do tratamento, o paciente se mantiver sem recidivas durante 12 meses, é declarado curado e em princípio, não terá mais recidivas.

10. Prognóstico

Ao longo do tempo o prognóstico da DC tem vindo a melhorar, principalmente devido ao progresso nos tratamentos disponíveis, mas também devido a uma melhor compreensão da doença (Gortel, 2006). Tal como foi referido acima, está dependente do tipo de demodicose (localizada ou generalizada), da idade e da presença de doenças concomitantes (Leitão & Leitão, 2008).

10.1. Demodicose localizada

A DL tem um bom prognóstico, uma vez que 90% dos casos resolvem-se espontaneamente em 3 a 8 semanas e normalmente não recidivam. Contudo, 10% evoluem para a forma generalizada (Corrales *et al.*, 1999).

10.2. Demodicose generalizada

Apesar de ter melhorado ao longo do tempo, o prognóstico da DG é incerto, pois esta continua a ser uma doença difícil de tratar (Miller *et al.*, 2013; Verde, 2005). Geralmente a maioria dos pacientes atinge a remissão a longo prazo e pode mesmo ocorrer a recuperação espontânea em cerca de 30 a 50% dos cães com menos de 1 ano e meio de idade. Com tratamentos intensivos, é atingida uma taxa de cura de 90%, o que pode demorar até 12 meses (Miller *et al.*, 2013). Por outro lado, estima-se que, provavelmente,

10% dos cães sejam incapazes de atingir a cura, qualquer que seja o protocolo terapêutico. Nestes casos, o proprietário poderá optar pela eutanásia ou por um tratamento crônico de manutenção, como por exemplo banhos de amitraz a cada 3 ou 4 semanas (Nesbitt & Ackerman, 1998).

III. Estudo de uma nova técnica atraumática para diagnóstico de *Demodex canis* e sua comparação com técnicas já utilizadas

1. Objectivos

Este estudo visa avaliar a viabilidade da utilização de uma nova técnica atraumática para o diagnóstico e monitorização da DC após o início do tratamento, assim como a sua comparação com os métodos tradicionais já conhecidos, a raspagem cutânea profunda e o tricograma, e ainda com uma técnica mais recente do que estas últimas, a técnica da fita adesiva.

2. Material e métodos

O material utilizado neste método testado consiste num produto direccionado para a higiene humana feminina, nomeadamente para o cuidado do rosto, as bandas purificantes *Clear-up Strips* dos laboratórios NIVEA®. Estas bandas, enriquecidas com ácido cítrico, servem para a limpeza dos poros em profundidade, removendo assim os pontos negros. Considerando que as bandas removem o conteúdo dos poros e que os ácaros *Demodex* se localizam no interior dos folículos pilosos, foi colocada a hipótese de que estas bandas poderiam resultar na remoção dos ácaros da pele, constituindo assim um método de diagnóstico possível para a DC. Ressalva-se que esta ideia, que deu origem a esta dissertação de mestrado, surgiu de uma colaboração entre a Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço e a Médica Veterinária diplomada pelo ECVD, Doutora Vanessa Schmidt, professora na Universidade de Liverpool.

2.1. Critérios de inclusão de animais no estudo

Os cães incluídos neste estudo foram previamente diagnosticados com DC através de algum dos quatro métodos testados: raspagens cutâneas profundas, técnica das bandas NIVEA®, tricograma e/ou técnica da fita adesiva. Assim, todos os cães positivos para os ácaros *Demodex* foram incluídos, independentemente da idade, sexo, doenças e/ou tratamentos concomitantes.

2.2. Amostra em estudo

Doze cães positivos para DC foram incluídos neste estudo. Esta população foi observada no período correspondente ao estágio curricular, desde o dia 2 de Setembro de 2013 até 28 de Fevereiro de 2014, sendo a maioria da população proveniente do Hospital Escolar da FMV-UL e apenas dois cães da Associação Protectora de Animais “O Cantinho da Milú” em

Palmela. No hospital da FMV, sete casos foram observados nas consultas de referência de Dermatologia e três foram observados na Medicina Interna. Todos os proprietários foram informados do presente estudo e deram o consentimento para a inclusão dos seus cães. Por cada animal foi preenchida uma “ficha do paciente” criada pela autora para registo e organização dos dados (Anexo 2).

2.3. Protocolo experimental

O diagnóstico de DL e DG foi baseado no número de lesões apresentadas, sendo 5 ou menos lesões circunscritas de alopecia, descamação e eritema classificados como DL, enquanto um quadro clínico com 6 ou mais lesões correspondeu a DG.

Suspeitou-se de piodermite bacteriana aquando da presença de pápulas ou pústulas e esta foi confirmada, na maior parte dos casos, pela realização de citologias cutâneas.

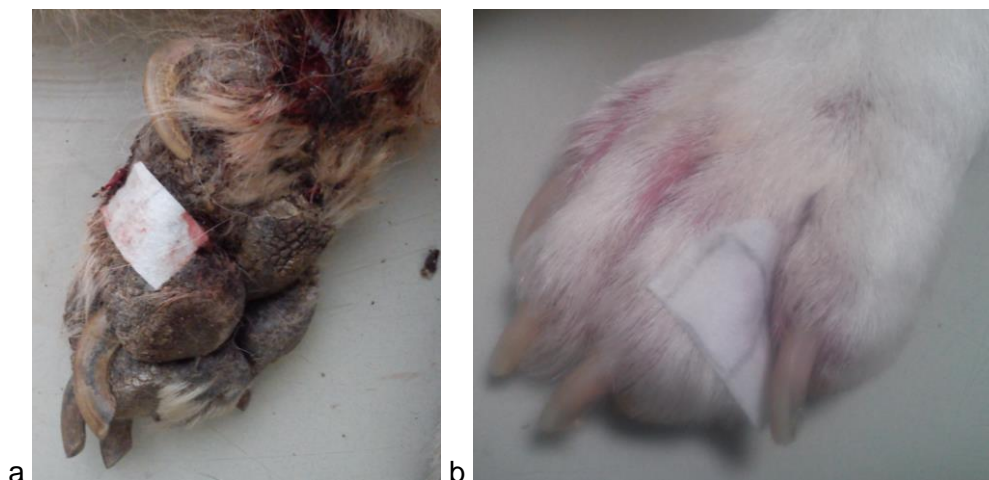
As lesões escolhidas para a recolha de amostras foram seleccionadas independentemente da sua natureza e localizaram-se na cabeça, pescoço, tronco, abdómen e/ou membros. Excepto num caso de DL com uma única lesão circular circunscrita, no qual apenas essa zona foi seleccionada (Figura 4), em cada animal foram seleccionadas duas zonas clinicamente afectadas nas quais foram recolhidas amostras através de quatro métodos de diagnóstico: raspagens cutâneas profundas, técnica das bandas NIVEA®, tricograma e técnica da fita adesiva. Em cada uma destas zonas seleccionadas os quatro métodos de diagnóstico foram realizados em zonas adjacentes.

Para a raspagem cutânea profunda elegeu-se uma área de cerca de 1 a 2 cm², na qual se apertou uma prega de pele e se raspou com uma lâmina de bisturi, no sentido do crescimento do pêlo, até surgir sangue capilar. O material recolhido foi colocado numa lâmina de vidro contendo uma a duas gotas de parafina líquida para posterior observação.

Para o método da fita adesiva, utilizou-se a fita Scotch 3M® com dimensões de 1,90 cm de largura e cerca de 1,00 cm de comprimento. Após colocar a fita e apertar a prega de pele, esta colocou-se directamente nas lâminas de vidro para observação ao microscópio.

Para a técnica NIVEA®, recortou-se uma banda NIVEA® de forma a representar uma área de cerca de 2 cm². Antes da sua colocação, a zona da pele a ser amostrada foi humedecida para permitir a adesão da banda (pois esta não adere à pele seca) e também apertada de modo a promover a extrusão do material contido no folículo. Deve actuar durante 10 minutos no mínimo, o que permite que, com o tempo, a banda seque e endureça (Figura 10).

Figura 10. Aplicação da banda NIVEA® em zonas onde a realização das raspagens profundas é difícil e dolorosa: face lateral esquerda do MPD (a) e zona interdigital (b) (fotografias originais).



Em cães muito agitados pode ser difícil de se manterem coladas à pele, pelo que, nesses casos, foi colocado adesivo perfurado Leukoplast® por cima. Depois de removida, o seu conteúdo foi raspado com uma lâmina de bisturi para uma lâmina de vidro contendo 1-2 gotas de parafina líquida para observação ao microscópio. Este protocolo foi baseado nas instruções de utilização do produto *Clear-up Strips* dos laboratórios NIVEA® (Anexo 3).

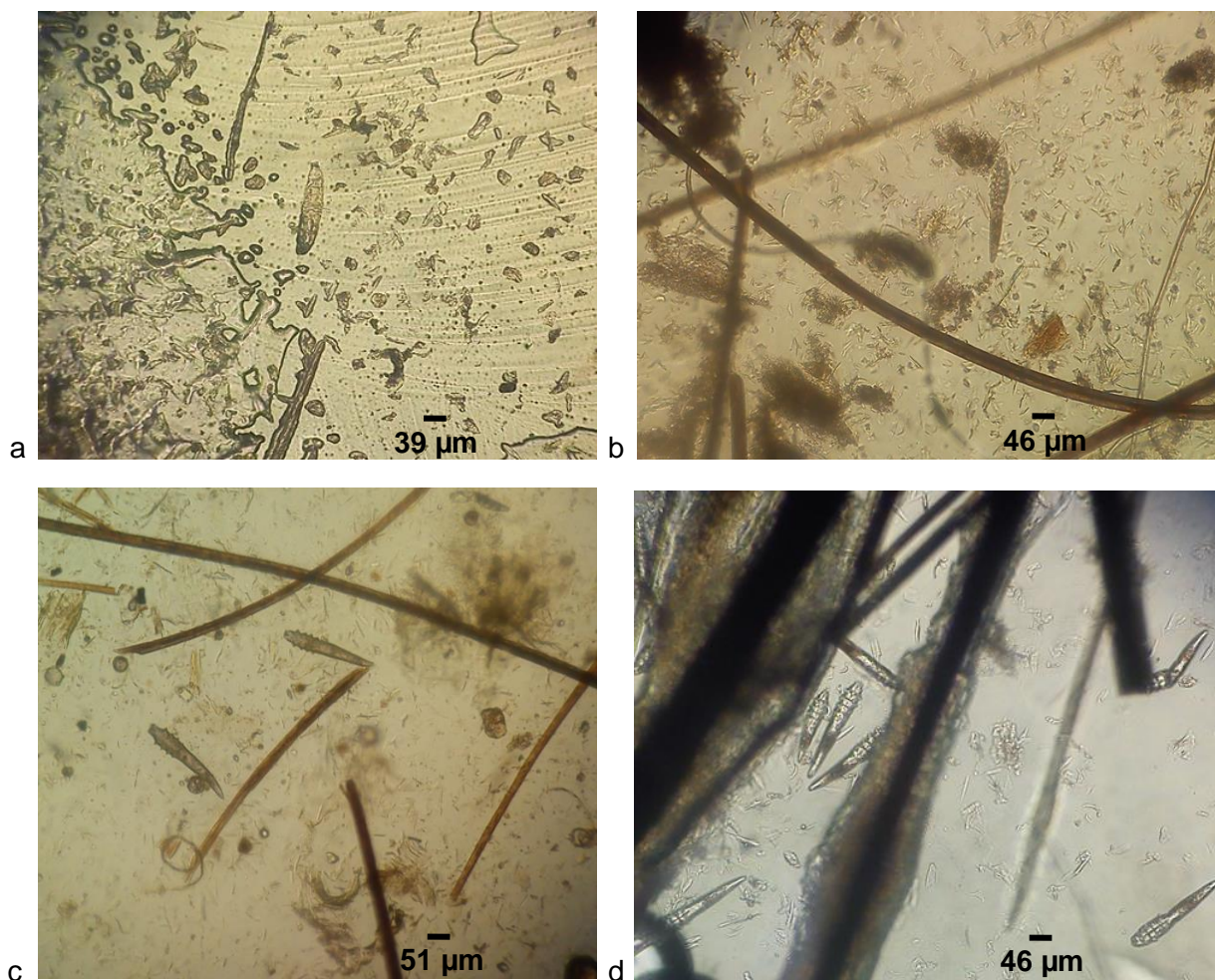
No tricograma, foram colhidos cerca de 50-100 pêlos com uma pinça hemostática e colocados numa lâmina de vidro contendo parafina líquida.

Quando possível, este protocolo foi repetido nas consultas de reavaliação do animal.

Todas as amostras obtidas foram observadas ao microscópio óptico numa ampliação de x 100 (objectiva x10 e ocular x10) e classificadas como positivas quando apresentaram pelo menos um parasita. Foi realizada a contagem diferenciada de adultos, ninfas, larvas e ovos.

Na Figura 11 podem ser observados quatro exemplos da visualização microscópica de *D. canis* obtidos por cada um dos diferentes métodos de diagnóstico realizados.

Figura 11. Comparação da visualização ao microscópio óptico do produto obtido pela técnica da fita adesiva (a), técnica NIVEA® (b), raspagens profundas (c) e tricograma (d) (fotografias originais).



2.4. Análise estatística

Foram utilizados essencialmente métodos de estatística descritiva para avaliar os resultados obtidos. Para avaliar a concordância entre as sensibilidades relativas obtidas para cada um dos quatro métodos de diagnóstico foi utilizado o coeficiente kappa (κ), considerando os seguintes níveis de concordância: Fr - fraco ($<0,2$), Ra - razoável ($0,2-0,4$), Mo - moderado ($0,4-0,6$), Su - substancial ($0,6-0,8$) e Qp - quase perfeito ($> 0,8$) (Dohoo, Martin, & Stryhn, 2003). O teste não paramétrico de Fisher foi utilizado para comparar as sensibilidades dos vários métodos de diagnóstico quanto às formas clínicas de demodicose (localizada e generalizada; complicada e não complicada; juvenil e adulta). Para comparar o número de ácaros contabilizados por cada método de diagnóstico foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal Wallis, enquanto o teste não paramétrico de Mann-Whitney foi utilizado para

analisar as contagens de ácaros totais obtidas para cada forma clínica de demodicose (localizada e generalizada; complicada e não complicada; juvenil e adulta).

Para a análise estatística dos métodos de diagnóstico antes e após o início do tratamento foram realizados dois testes não paramétricos para amostras emparelhadas, o teste McNemar para a avaliação das sensibilidades relativas e o teste Wilcoxon Signed Rank para a avaliação do número de ácaros contabilizados.

Para os testes estatísticos referidos, $p < 0,05$ foi considerado significativo. Estes testes foram realizados através do programa SPSS versão 22.

3. Resultados

3.1. Caracterização da população e da apresentação clínica de demodicose

Dos 12 cães incluídos neste estudo, 7 eram machos (58,3%) e 5 eram fêmeas (41,6%), sendo apenas 2 de raça indeterminada (16,6%). A maior parte da população, 10 cães, foi de raça pura (83,3%), sendo a mais representada o Bulldog Francês (5 cães, 41,6%). As raças Serra da Estrela, Dobermann, Dogue de Bordéus, Pointer e Pit Bull foram representadas cada uma por um cão (8,3%). A maioria das raças apresentou pelagem curta (9/12; 75,0%). A idade variou entre 4 meses a 6 anos (média de 38 meses e mediana de 9 meses). O peso variou entre 6,5 a 39,8 kg (média de 18,4 kg). A Tabela 3 representa estes dados.

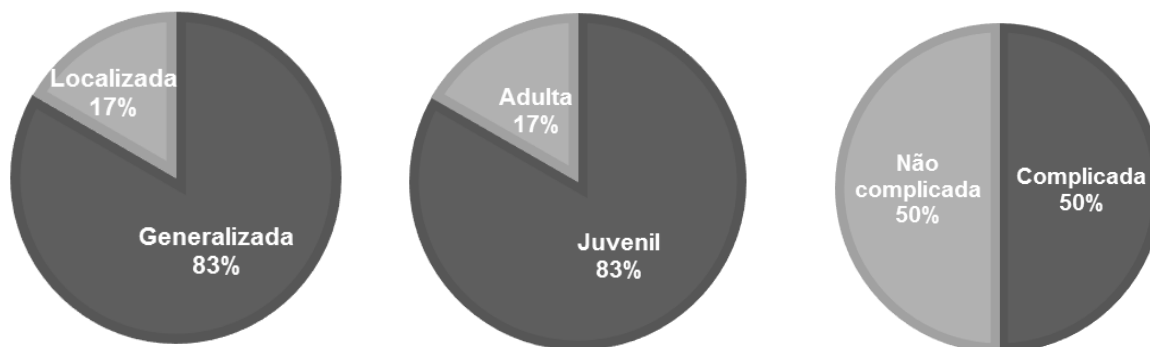
Tabela 3. Características epidemiológicas da população estudada e seu diagnóstico.

Animal	Raça	Idade	Sexo	Peso (kg)	Diagnóstico
A1	Bulldog Francês	8 meses	M	11,2	DGJ e PBS
A2	Bulldog Francês	1 ano	F	11,6	DGJ
A3	Serra da Estrela	6 anos	F	21,0	DGA e PBS
A4	Dogue de Bordéus	6 meses	M	39,8	DGJ e PBS
A5	Dobermann	8 meses	F	27,3	DGJ e PBS
A6	Bulldog Francês	9 meses	M	14,4	DL
A7	Bulldog Francês	8 meses	M	12,0	DGJ
A8	Bulldog Francês	4 meses	F	6,6	DGJ e PBS
A9	Indeterminada	9 meses	M	8,0	DGJ
A10	Indeterminada	9 meses	M	6,5	DGJ
A11	Pit Bull	5 anos	M	36,4	DGA e PBS
A12	Pointer	1 ano	F	26,5	DL

Legenda: A – Animal; M – Macho; F – Fêmea; DGJ – Demodicose Generalizada Juvenil; DGA – Demodicose Generalizada Adulta; DL – Demodicose Localizada; PBS – Piodermite Bacteriana Secundária

A demodicose foi caracterizada como localizada em 2 cães (16,6%) e generalizada em 10 (83,3%) e ainda como juvenil em 10 cães (83,3%) e adulta em 2 (16,6%). Em metade dos casos a demodicose foi complicada por piodermite bacteriana secundária (50%) (Gráfico 2).

Gráfico 2. Distribuição das formas clínicas de demodicose na população estudada (n=12).



3.2. Caracterização dos sinais clínicos observados

Quanto à distribuição dos sinais clínicos, a zona da cabeça apresentou-se afectada em 8 cães (66,6%), os membros e o tronco em 6 (50%), o pescoço em 4 (33,3%) e o abdómen em 2 (16,6%).

Na DL os sinais clínicos mais frequentemente observados foram alopecia e comedões, enquanto na DG não complicada foram observados alopecia, eritema, descamação e comedões. Na presença de piodermite secundária os sinais clínicos mais registados foram prurido, pápulas, pústulas, eritema, alopecia, crostas e hiperpigmentação, sendo que em casos mais graves, para além destes últimos, acrescentou-se edema, hiperqueratose, liquenificação, tractos fistulosos e dor.

3.3. Número de amostras obtidas

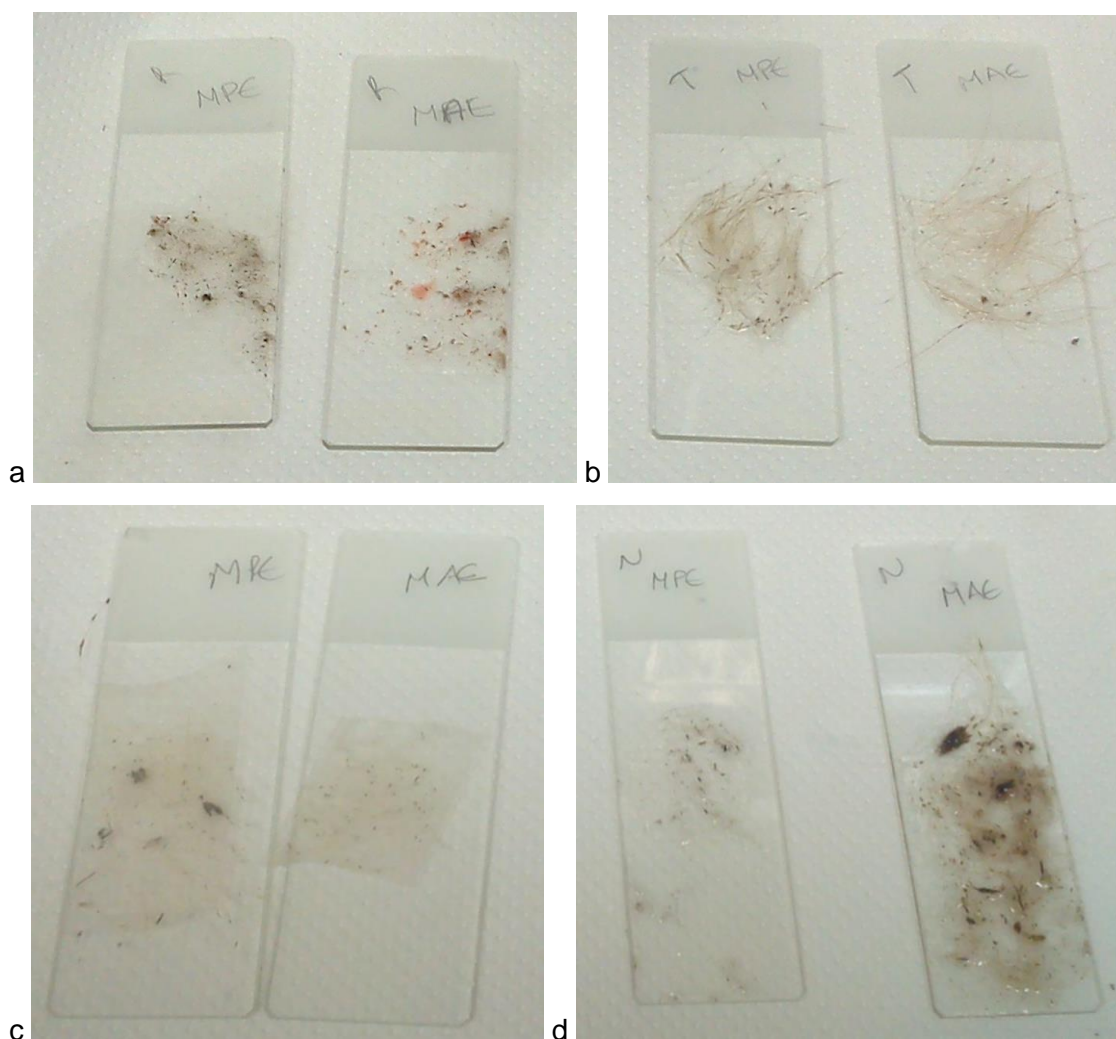
Como foram realizados 4 métodos de diagnóstico em 2 zonas de 11 cães, juntamente com 4 métodos de diagnóstico numa zona de um cão, foram obtidas um mínimo de 92 amostras, 23 por cada método de diagnóstico. Estas amostras foram recolhidas na primeira consulta, ou seja, no momento em que foi obtido o diagnóstico de DC, pelo que os pacientes não se encontravam ainda em tratamento.

Sempre que possível, o mesmo procedimento foi repetido nas consultas de *follow-up*, as quais englobaram apenas 5 cães da população inicial, obtendo-se um total de 72 amostras, 18 por cada método de diagnóstico. No entanto, como referido abaixo, 32 destas amostras foram eliminadas de modo a permitir a comparação de uma mesma população nas mesmas condições, analisando-se assim 40 amostras, 10 por cada método de diagnóstico.

Concluindo, no total foram analisadas 132 amostras, 33 por cada método de diagnóstico realizado. A análise das amostras foi realizada em separado, estudando-se primeiro os resultados obtidos nas consultas de diagnóstico da população inicial de 12 cães e de seguida, a comparação entre as amostras obtidas antes e após o início do tratamento na população de 5 cães.

Na Figura 12 podem ser observados exemplos das amostras obtidas a partir de duas zonas corporais de um mesmo paciente através dos quatro métodos de diagnóstico.

Figura 12. Recolha de material através dos quatro métodos de diagnóstico: raspagens profundas (a), tricograma (b), fita adesiva (c) e técnica NIVEA® (d) (fotografias originais).



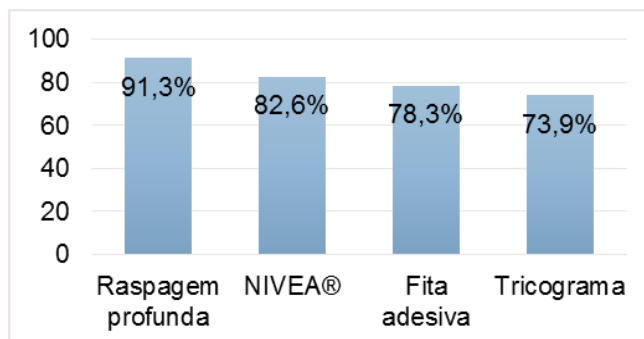
3.4. Estudo dos métodos de diagnóstico antes do início do tratamento

3.4.1. Sensibilidade relativa

A sensibilidade relativa (percentagem de amostras com pelo menos um parasita) obtida para as raspagens cutâneas profundas foi de 91,3%, obtendo-se 21 amostras positivas num total

de 23 amostras recolhidas. Quanto à técnica das bandas NIVEA[®], a sensibilidade registada foi de 82,6% (19/23), seguindo-se a técnica da fita adesiva com 78,3% (18/23) e por último, o tricograma com 73,9% (17/23) (Gráfico 3).

Gráfico 3. Sensibilidades relativas obtidas para os quatro métodos de diagnóstico.



A análise estatística em relação à concordância (κ) entre os resultados obtidos nos vários métodos de diagnóstico é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4. Análise estatística da concordância entre os resultados obtidos para os quatro métodos de diagnóstico.

	Técnica NIVEA [®]	Fita adesiva	Raspagem profunda
Tricograma	$\kappa = 0,76$ Su	$\kappa = 0,88$ Qp	$\kappa = 0,84$ Qp
Raspagem profunda	$\kappa = 0,83$ Qp	$\kappa = 0,88$ Qp	
Fita adesiva	$\kappa = 0,88$ Qp		

Verificou-se que, no geral, as sensibilidades relativas obtidas para os vários métodos de diagnóstico apresentaram uma concordância quase perfeita ($\kappa > 0,8$).

Foi ainda calculada a sensibilidade relativa consoante o tipo de DC (localizada, generalizada, complicada, não complicada, juvenil e adulta) a qual é apresentada na Tabela 5. Quanto à distribuição corporal da demodicose, a sensibilidade dos vários métodos foi maior na DG do que na DL, excepto no caso das raspagens profundas, embora esta diferença não seja estatisticamente significativa ($p=1,00$). Da mesma forma, a diferença na sensibilidade entre estas duas formas clínicas nos restantes métodos de diagnóstico também não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$). Em relação à presença de infecção bacteriana secundária, a sensibilidade dos métodos de diagnóstico foi maior quando esta estava presente (forma complicada) do que quando esta não surgiu (forma não complicada), sendo esta diferença apenas estatisticamente significativa na técnica NIVEA[®] ($p=0,04$) e na

técnica da fita adesiva ($p=0,01$). A sensibilidade dos vários métodos foi sempre maior na forma adulta do que na juvenil ($p>0,05$).

As raspagens profundas foram o método mais sensível em todas as formas clínicas de DC, seguindo-se a técnica NIVEA[®], cuja sensibilidade foi superior aos restantes métodos nos casos de DG e de DJ. O tricograma demonstrou uma sensibilidade mais baixa dos que os restantes métodos na DG, na forma complicada e na DA, enquanto a sensibilidade da técnica da fita adesiva foi menor nos casos não complicados. Assim, excluindo as raspagens profundas e considerando apenas os três métodos atraumáticos, concluiu-se que, na DL os três métodos apresentaram sensibilidades iguais, na DG e na DJ, a técnica NIVEA[®] foi o melhor método, na demodicose complicada e adulta a técnica NIVEA[®] e a fita adesiva foram os métodos mais sensíveis e por fim, na demodicose não complicada a técnica NIVEA[®] e o tricograma foram os que demonstraram maior sensibilidade.

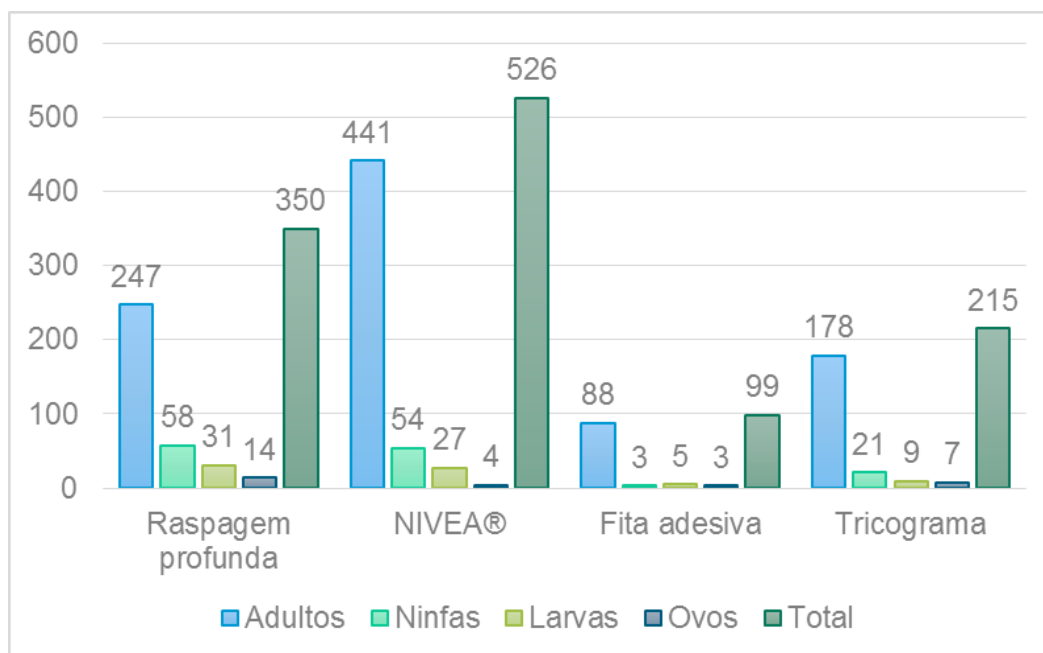
Tabela 5. Sensibilidade relativa dos quatro métodos no diagnóstico nas várias formas clínicas de DC.

	Raspagem profunda	NIVEA[®]	Tricograma	Fita adesiva
Localizada	3/3 (100%)	2/3 (66,6%)	2/3 (66,6%)	2/3 (66,6%)
Generalizada	18/20 (90,0%)	18/20 (90,0%)	15/20 (75,0%)	16/20 (80,0%)
Complicada	12/12 (100%)	12/12 (100%)	10/12 (83,3%)	12/12 (100%)
Não complicada	9/11 (81,8%)	7/11 (63,6 %)	7/11 (63,6%)	6/11 (54,5%)
Juvenil	17/19 (89,5%)	15/19 (78,9%)	14/19 (73,7%)	14/19 (73,7%)
Adulta	4/4 (100%)	4/4 (100%)	3/4 (75%)	4/4 (100%)
Total	21/23 (91,3%)	19/23 (82,6%)	17/23 (73,9%)	18/23 (78,3%)

3.4.2. Número de ácaros contabilizados

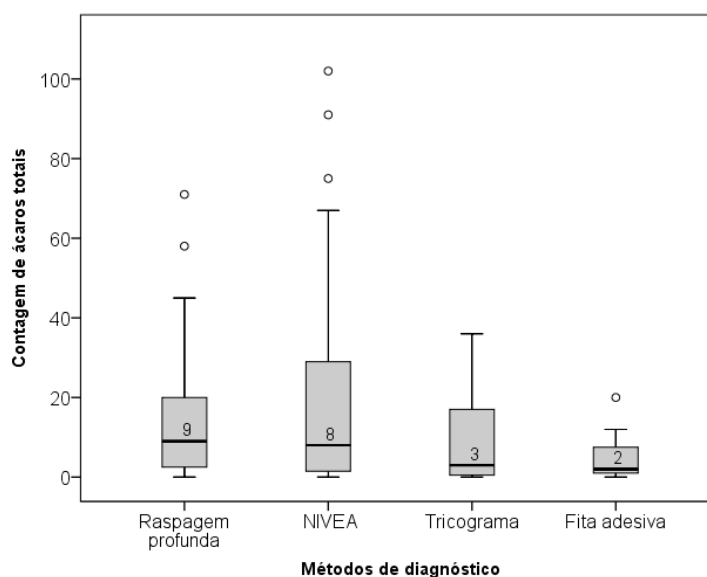
O Gráfico 4 permite a comparação das contagens de ácaros totais assim como diferenciadas consoante a sua fase evolutiva (adultos, ninfas, larvas e ovos) obtidas por cada método de diagnóstico. Verificou-se que o método das bandas NIVEA[®] foi o que evidenciou o maior número de ácaros totais devido ao maior número de adultos contabilizados, sendo as raspagens profundas o método que detectou mais formas imaturas e o segundo método a detectar mais adultos. Seguiu-se o tricograma e por último, a técnica da fita adesiva.

Gráfico 4. Número de ácaros contabilizados pelos quatro métodos de diagnóstico.



De acordo com o teste estatístico de Kruskal-Wallis, as contagens de ácaros totais obtidas a partir dos quatro métodos de diagnóstico não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si ($p > 0,05$). Como demonstrado no Gráfico 5, a maioria dos valores totais de ácaros registados encontra-se abaixo dos 20, sendo um pouco superior no caso da técnica NIVEA®. Este foi o método onde se registaram mais valores discrepantes superiores, seguindo-se as raspagens profundas. A mediana obtida para as raspagens profundas foi ligeiramente superior à obtida para a técnica NIVEA®, seguindo-se a do tricograma e por último, a da técnica da fita adesiva.

Gráfico 5. Diagrama de caixa relativo à contagem de ácaros totais obtida para cada método de diagnóstico.



Na Tabela 6 são apresentados o mínimo, máximo e a mediana do número de parasitas adultos contabilizados em cada técnica de diagnóstico, consoante a forma clínica de DC (localizada, generalizada, complicada, não complicada, juvenil e adulta). Verifica-se que as raspagens profundas e a técnica NIVEA® foram os métodos que apresentaram um menor número de amostras negativas, assim como os que contabilizaram um maior número de parasitas. A contagem de parasitas realizada pelos diversos métodos foi maior nas formas generalizada, complicada e adulta. De acordo com o teste de Mann-Whitney, estas diferenças entre as contagens de ácaros obtidas pelos quatro métodos de diagnóstico nas várias formas clínicas de demodicose não se revelaram estatisticamente significativas ($p>0,05$).

Tabela 6. Número mínimo, máximo e mediana dos parasitas adultos detectados com os vários métodos de diagnóstico consoante a forma clínica de DC.

	Raspagem profunda	NIVEA®	Tricograma	Fita adesiva
Localizada	1-31 (1)	0-21 (1)	0-1 (1)	0-3 (2)
Generalizada	0-56 (5,5)	0-87 (6)	0-30 (4)	0-19 (2)
Complicada	3-34 (7,5)	2-86 (7,5)	0-27 (4)	0-19 (2,5)
Não complicada	0-56 (2)	0-87 (1)	0-30 (1)	0-12 (1)
Juvenil	0-56 (5)	0-87 (4)	0-30 (2)	0-19 (2)
Adulta	3-13 (5,5)	5-8 (7,5)	0-14 (5)	0-10 (5)
Total	0-56 (5)	0-87 (5)	0-30 (3)	0-19 (2)

3.5. Estudo dos métodos de diagnóstico após o início do tratamento

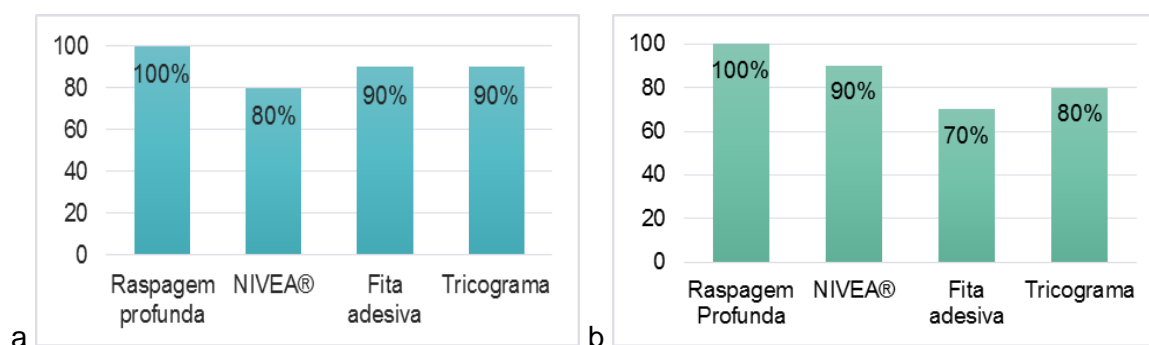
O estudo da evolução da sensibilidade e das contagens de ácaros obtidas pelos vários métodos de diagnóstico ao longo do tempo abrange uma população forçosamente menor, pois a maioria dos casos (7/12) foram avaliados apenas uma vez na consulta de diagnóstico, sendo por conveniência dos proprietários, encaminhados para os médicos veterinários assistentes, obtendo-se assim apenas 5 pacientes com consultas de reavaliação. Destes 5, 3 realizaram uma só consulta de *follow-up*, um realizou 2 consultas de *follow-up* e um mesmo paciente realizou 4 consultas de *follow-up*. No total obtiveram-se 72 amostras, 18 por cada método de diagnóstico. Contudo, uma vez que o estudo de cada consulta de *follow-up* em separado (1ª, 2ª, 3ª e 4ª) apresentaria um número de casos reduzido, cada método é estudado quanto à sua sensibilidade relativa e número de ácaros contabilizados através das amostras obtidas na primeira consulta de seguimento, cerca de 3 semanas após a consulta de diagnóstico. Assim, são analisadas 40 amostras, 10 por cada método de diagnóstico. No Anexo 4 pode ser consultada uma tabela com estes dados,

evidenciando o tipo de demodicose apresentada por cada animal e os resultados obtidos para cada método de diagnóstico (classificados como positivos ou negativos), assim como as amostras que tiveram que ser eliminadas. A população desta vertente do estudo abrange apenas casos de DG, um caso de DC não complicada, 4 casos de DC complicada, um caso de DA e 4 casos de DJ.

3.5.1. Sensibilidade relativa

Verificou-se que as raspagens profundas foram sempre positivas (10/10), a técnica das bandas NIVEA® revelou uma sensibilidade de 80% na consulta de diagnóstico, evoluindo para 90% na consulta de seguimento. A técnica da fita adesiva começou por ter uma sensibilidade de 90% no momento de diagnóstico, diminuindo para 70% no seguimento. O tricograma revelou uma sensibilidade inicial de 90% que diminuiu para 80% na consulta de seguimento (Gráfico 6). De acordo com o teste de McNemar, estas diferenças observadas antes e depois do tratamento ser iniciado não são estatisticamente significativas ($p>0,05$).

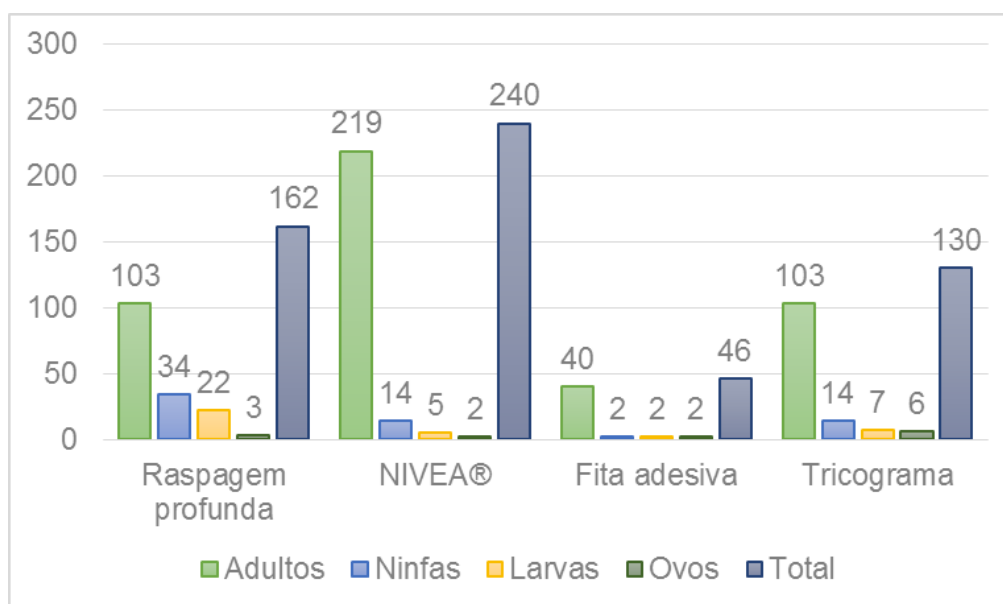
Gráfico 6. Sensibilidades relativas obtidas para os quatro métodos de diagnóstico na consulta de diagnóstico (a) e na consulta de *follow-up* (b).



3.5.2. Número de ácaros contabilizados

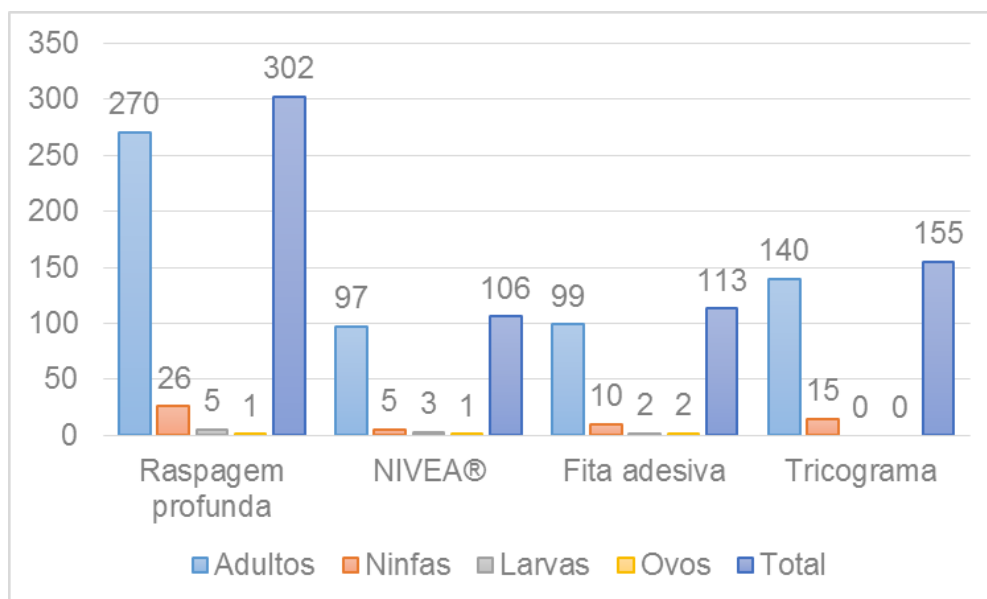
Nas consultas de diagnóstico (Gráfico 7) a técnica das bandas NIVEA® foi a que contabilizou um maior número de ácaros, devido ao maior número de adultos contabilizados, sendo, no entanto, ultrapassada pelas raspagens profundas e pelo tricograma em relação ao número de formas imaturas. O tricograma detectou o mesmo número de adultos que as raspagens profundas, embora o número de ácaros total tenha sido menor, pois as raspagens profundas foram o método que contabilizou mais formas imaturas. A técnica da fita adesiva foi a que detectou um menor número de parasitas em todas as suas fases evolutivas, excepto no número de ovos, que foi igual ao número de ovos detectados pela técnica NIVEA®.

Gráfico 7. Número de ácaros contabilizados pelos quatro métodos na consulta de diagnóstico.



Por outro lado, na consulta de seguimento (Gráfico 8), as contagens de ácaros totais obtidas pelas raspagens profundas foram superiores às obtidas pela técnica NIVEA®, a qual foi também superada pelo tricograma e pela técnica da fita adesiva, sendo assim, o método que detectou um menor número de parasitas, tanto adultos como imaturos. As raspagens profundas foram o método que contabilizou mais ácaros em todas as suas fases evolutivas, excepto no número de ovos, que foi ligeiramente maior na técnica da fita adesiva. Seguiu-se o tricograma e a técnica da fita adesiva, que contabilizaram um número de formas imaturas semelhante, embora o tricograma tenha detectado um maior número de adultos. O número de formas imaturas diminuiu em quase todos os métodos em relação à primeira consulta, excepto no caso da fita adesiva, que detectou mais ninfas e o mesmo número de larvas e ovos, e no caso do tricograma, que detectou mais um adulto.

Gráfico 8. Número de ácaros contabilizados pelos quatro métodos de diagnóstico na primeira consulta de *follow-up*.



Assim, foi possível observar que as raspagens profundas foram o método que detectou mais formas imaturas em ambas as consultas e mais adultos na consulta de seguimento. A técnica das bandas NIVEA® demonstrou superioridade no número de adultos detectados na consulta de diagnóstico, embora na consulta de seguimento as contagens obtidas com este método tenham sido inferiores às dos restantes. O tricograma e a técnica da fita adesiva foram o 3º e o 4º métodos a detectar mais parasitas na primeira consulta, assim como o 2º e 3º na consulta de seguimento, respectivamente.

De acordo com o teste Wilcoxon Signed Rank, o número de ácaros detectados antes e depois do tratamento ser iniciado não apresenta diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos métodos de diagnóstico.

4. Discussão

4.1. População estudada

Este estudo não incluiu uma população de controlo com cães saudáveis, pois, como comprovado pelos estudos a seguir apresentados, a sensibilidade dos métodos de diagnóstico nestes casos é baixa, tornando-se assim pouco provável evidenciar os ácaros *Demodex* comensais nestes animais. No estudo de Rodriguez-Vivas, Ortega-Pacheco, Rosado-Aguilar, & Bolio (2003), em 101 cães errantes sem lesões dermatológicas, foram encontrados ácaros (sem especificar se se trataram de ácaros dos géneros *Demodex*, *Sarcoptes* ou *Otodectes*) em apenas 3 cães através de raspagens cutâneas e/ou zaragatoa auricular. Chee *et al.* (2008) detectaram 5 cães positivos para *Demodex* num total de 103

cães errantes (alguns com lesões dermatológicas) através de raspagens cutâneas em 3 a 5 zonas corporais. Recorrendo ao tricograma em 5 zonas corporais de 78 cães saudáveis, Fondati *et al.* (2009) encontraram apenas um *Demodex injai* adulto na comissura labial de um cão. Mais recentemente, recorrendo a uma técnica mais sensível, o PCR em tempo real, em amostras de pêlos, estes valores apresentaram-se mais elevados: em 17,6% de uma população de cães saudáveis (9/51) foi possível demonstrar a presença de *Demodex* (Ravera *et al.*, 2011). Com a mesma técnica, em 100 cães de um canil, 18 foram positivos para *Demodex*. Quanto maior a quantidade de amostras recolhidas, maior foi a percentagem de cães positivos (Ravera *et al.*, 2013).

Tal como acima referido, não é comum encontrar nem um ácaro *Demodex* nos cães saudáveis, pelo que a presença de um parasita não deve ser considerada normal e deve levar à recolha de mais amostras, pois a suspeita de DC aumenta (Mueller *et al.*, 2012; Fondati *et al.*, 2009). Deste modo, as amostras obtidas neste estudo com pelo menos um ácaro foram classificadas como positivas.

4.2. Caracterização da população e da apresentação clínica de demodicose

Em relação à população abrangida por este estudo, verificou-se uma elevada ocorrência da DC em raças puras (10/12; 83,3%), particularmente na raça Bulldog Francês (5/12; 41,6%). Há muito que a predisposição rática da DC é descrita na literatura, que a associa a um modo de transmissão com base hereditária (Scott *et al.*, 2001). Apesar da raça Bulldog Francês geralmente não estar incluída no grupo de raças predispostas a esta doença, um estudo americano recente (Plant *et al.*, 2011) considerou-a como uma raça de risco significativo para o desenvolvimento de DC e para além disso, a sua popularidade em Portugal parece ter vindo a aumentar, o que pode explicar a sua predominância neste estudo. A maioria das raças representadas (9/12; 75%) apresenta pelagem curta. Apesar de controverso, este é um dos factores predisponentes para DC mencionados na literatura (Scott *et al.*, 2001). Não se sabe se esta predisposição está relacionada com diferenças na morfologia da unidade pilossebácea destes cães em comparação com os de pelagem comprida, sendo também possível que, como as lesões são mais visíveis nos cães de pêlo curto, estes sejam mais facilmente diagnosticados (Plant *et al.*, 2011).

A ocorrência da DC em machos (7/12; 58,3%) foi ligeiramente superior à das fêmeas (5/12; 41,6%), no entanto, considera-se que esta diferença não é significativa, estando assim de acordo com a premissa de que ambos os sexos são igualmente susceptíveis à DC (Nayak *et al.*, 1998). Quanto à idade, com uma mediana de 9 meses, a demodicose juvenil foi mais frequente do que a adulta, o que está em concordância com o facto de esta doença ser mais frequente em cães jovens (Scott *et al.*, 2001).

A apresentação clínica mais comum de demodicose é a localizada (Gross *et al.*, 2005), no entanto, visto que esta é uma forma benigna e auto-limitante, poderá ser menos diagnosticada na prática clínica, o que explica o maior número de casos de DG na população estudada. A infecção bacteriana secundária, frequente na DC (Scott *et al.*, 2001), surgiu em metade da população estudada, sendo que em 2 cães foram encontrados bastonetes na citologia cutânea. Num dos casos foi realizada cultura, que permitiu o isolamento de *Clostridium perfringens*, e teste de sensibilidade a antibióticos que revelou sensibilidade a amoxicilina e ácido clavulânico, ampicilina, enrofloxacina, estreptomicina, sulfametoxazol e trimetoprim e sensibilidade intermédia para a cefalexina.

Tal como referido na literatura (Scott *et al.*, 2001), o abdómen foi a zona menos afectada, possivelmente devido à sua menor densidade pilosa, enquanto a cabeça, tronco e membros foram os mais afectados. Os sinais clínicos observados estão também de acordo com os sinais normalmente descritos na DC.

4.3. Resultados obtidos consoante a forma clínica de DC

De um modo geral, tanto as sensibilidades relativas detectadas como as cargas parasitárias contabilizadas pelos vários métodos de diagnóstico foram mais elevadas no caso da DG, da DA e quando complicada por piodermite bacteriana (Tabela 5 e Tabela 6), o que foi igualmente verificado nos estudos de Saridomichelakis *et al.* (2007) e Cury *et al.* (2013).

Os cães com DC tornam-se progressivamente mais imunodeprimidos com o aumento da quantidade de ácaros e/ou com a presença de piodermite (Miller *et al.*, 2013), o que explica estes resultados. A DA é uma forma de doença mais grave do que a DJ pois esta última está relacionada com a imaturidade do sistema imunitário devido a alterações endócrinas, cutâneas e imunológicas, que normalmente se resolvem aquando da maturidade sexual, enquanto a DA tem por base o comprometimento do sistema imunitário possivelmente devido a fármacos imunossupressores ou doenças concomitantes, sendo menos provável a sua resolução espontânea (Nuttall *et al.*, 2009). A DL surge principalmente nos pacientes jovens, sendo menos grave do que a DG (Miller *et al.*, 2013). Quando a piodermite secundária complica a demodicose, a libertação de factores imunossupressores contribui para agravar o desequilíbrio cutâneo, estimulando a proliferação dos ácaros *Demodex* (Miller *et al.*, 2013).

Comparando os métodos entre si, verificou-se que as raspagens profundas foram o método mais sensível em todas as formas de DC. Em relação à sensibilidade entre os restantes métodos, a técnica NIVEA® foi superior na forma generalizada e na forma juvenil, não sendo em nenhum caso inferior ao tricograma nem à técnica da fita adesiva.

Na Tabela 6 uma anomalia pode ser aparentemente detectada, pois existem formas clínicas de DC em que o número mínimo de parasitas é zero em todos os métodos, o que não

corresponderia à convenção inicial de que os animais incluídos no estudo eram positivos para *Demodex*, definindo-se como positivos os casos com pelo menos um ácaro detectado por qualquer um dos métodos testados. No entanto, isto surgiu devido a um caso com historial de demodicose juvenil generalizada não complicada em que apenas foram detectados parasitas numa das zonas corporais seleccionadas. Assim, apesar das amostras da segunda zona corporal serem negativas para todos os métodos, estas foram incluídas, pois de acordo com a primeira zona, este paciente encontrava-se afectado por DC.

Não foram encontradas diferenças de tal forma evidentes que tornassem óbvia a escolha de um determinado método para determinada forma clínica, porém, foi possível constatar que, tal como referido na literatura, as raspagens profundas são o método de diagnóstico de eleição para a DC e que a técnica das bandas NIVEA® foi o segundo método a obter melhores resultados. De facto, como discutido abaixo, esta foi a técnica atraumática que demonstrou maior sensibilidade, o que a torna uma opção promissora para o diagnóstico de DC, especialmente em casos em que as raspagens profundas sejam difíceis de executar como em certas zonas (espaços interdigitais ou zona peri-ocular, por exemplo) ou ainda em cães agressivos. Uma população mais numerosa seria necessária para confirmar estes dados, nomeadamente para os casos de DL e de DA, cuja população foi das mais reduzidas neste estudo.

4.4. Estudo dos métodos de diagnóstico após o início do tratamento

Um resultado interessante nesta vertente do estudo foi o aumento da sensibilidade relativa verificado na técnica NIVEA® da consulta de diagnóstico para a consulta de seguimento. Por outro lado, nos restantes métodos não traumáticos (tricograma e técnica da fita adesiva) ocorreu uma diminuição da sensibilidade. A sensibilidade da técnica NIVEA® aumentou de 80 para 90%, ao contrário da do tricograma e da técnica da fita adesiva, as quais diminuíram de 90% para 80 e 70%, respectivamente. O único método onde não foram registadas variações de sensibilidade relativa antes e após o início do tratamento foram as raspagens profundas, nas quais esta se manteve igual a 100%, sendo assim o método que apresentou melhores resultados.

Considera-se assim que a técnica das bandas NIVEA® foi o melhor método atraumático na monitorização dos pacientes após o início do tratamento. Apesar de na consulta de diagnóstico desta população reduzida, a sensibilidade desta técnica ter sido mais baixa do que a dos restantes métodos, o mesmo não se verificou na população inicial mais abrangente de 12 cães, tal como discutido no tópico abaixo. A técnica da fita adesiva foi a que revelou uma menor sensibilidade na consulta de seguimento, pelo que é considerada o pior método para monitorizar DC. Os estudos anteriormente realizados acerca da utilização da técnica da fita adesiva no diagnóstico de DC não contemplaram o seu estudo após o

início do tratamento, servindo o presente estudo de alerta para uma possível menor sensibilidade desta técnica nestes casos. Uma população maior, estudada durante um período mais alargado, seria necessária para confirmar estes resultados e melhor avaliar a variação de sensibilidade relativa dos vários métodos antes e durante o tratamento.

Quanto às contagens de ácaros, na reavaliação da DC após 4 semanas é esperada uma diminuição do número de ovos e das fases juvenis e que muitos adultos estejam mortos (Ghubash, 2006), ou seja, é esperado que o rácio de parasitas mortos e de adultos em comparação com os vivos e imaturos aumente gradualmente (Nuttall *et al.*, 2009; Nesbitt & Ackerman, 1998). Neste estudo, em todos os métodos de diagnóstico, excepto na técnica das bandas NIVEA[®], foi contabilizado um maior número total de ácaros na primeira consulta de seguimento em relação à consulta de diagnóstico devido ao aumento no número de adultos. Quanto às formas imaturas, a técnica da fita adesiva foi a única que detectou um maior número aquando da consulta de seguimento, sendo que nos restantes métodos as contagens de formas imaturas foram mais baixas. Embora não tenha sido registado o seu número, o número de parasitas mortos aumentou gradualmente. Deste modo, pode-se considerar que os resultados obtidos estiveram, em parte, de acordo com o que seria esperado. O facto de a técnica da fita adesiva ter detectado mais formas imaturas na consulta de seguimento é atribuído a um paciente específico, no qual, inexplicavelmente, esta técnica detectou um aumento do número de ácaros em todas as suas fases evolutivas, enquanto todos os outros métodos contabilizaram um menor número de ácaros em todas as fases evolutivas. Este foi um caso de DG juvenil complicado semelhante a outros presentes nesta população, nos quais esta superioridade da técnica da fita adesiva na primeira consulta de seguimento não se verificou.

A razão para o menor número de ácaros detectados pela técnica das bandas NIVEA[®] na consulta de seguimento assim como para o maior número de ácaros detectados na consulta de diagnóstico, comparativamente com os outros métodos de diagnóstico, não é clara, estando, aliás, inversamente relacionada com os valores de sensibilidade obtidos para este método nestas consultas. Esta diferença estará relacionada com o tratamento, pois as amostras foram recolhidas nas mesmas zonas em ambas as consultas, sendo assim o tratamento a única diferença entre as amostras iniciais da consulta de diagnóstico e as amostras obtidas na primeira consulta de seguimento. Uma hipótese para o menor número de ácaros detectados na consulta de seguimento seria que, devido ao tratamento acaricida ou antimicrobiano (oral ou tópico), que diminui a inflamação cutânea, removendo crostas e detritos celulares contidos no folículo piloso, a aderência das bandas NIVEA[®] ao conteúdo do mesmo poderia ser dificultada. No entanto, durante a realização do procedimento nestas consultas não foi notada uma menor aderência das bandas, embora uma menor recolha de

material tenha sido provável, tal como nos restantes métodos de diagnóstico, devido à menor quantidade de exsudados e detritos presentes.

Uma outra hipótese seria que o tratamento poderia interferir de alguma forma com as substâncias vinculadas pelas bandas NIVEA®, tornando necessário um maior tempo de contacto, por exemplo. Porém, durante a realização do procedimento nestes cães, não foi notado que as bandas demorassem mais tempo a secar. De qualquer forma, esta diminuição no número de ácaros detectados não interferiu com a sensibilidade deste método, pelo contrário, pois a sensibilidade aumentou na consulta de seguimento. No momento de diagnóstico esta foi a técnica que detectou mais ácaros adultos. Neste caso o ambiente cutâneo não foi alterado pelo tratamento, pelo que os folículos pilosos se encontravam repletos de ácaros e detritos, o que poderá facilitar a aderência das bandas ao conteúdo folicular. Não se descarta a hipótese de estas diferenças terem ocorrido por acaso, pelo contrário, pois nesta vertente do estudo, a população, constituída apenas por 5 cães (10 amostras por método de diagnóstico), é muito reduzida, tornando-se muito dependente das variações individuais de cada caso. Mais estudos, com uma população maior, são necessários para melhor estudar o número de parasitas detectados por este método, antes e após o início da terapêutica.

Relembra-se que a consulta de *follow-up* aqui referida ocorreu apenas 3 semanas após o início do tratamento e que a DC é uma doença cujo tratamento é demorado e desafiante, pelo que as diferenças observadas entre estas duas consultas são pouco representativas de um tratamento que geralmente demora meses a ser concluído.

4.5. Comparação dos métodos de diagnóstico

Foram realizadas duas análises dos métodos de diagnóstico quanto às amostras obtidas nas consultas de diagnóstico, tendo uma a finalidade de ser comparada com a consulta de seguimento, incluindo assim uma população mais reduzida. Deste modo, as conclusões relativas aos métodos de diagnóstico antes do tratamento ser iniciado apresentadas neste tópico foram baseadas na primeira análise, a qual englobou a população inicial de 12 cães.

As bandas NIVEA® foram o método de diagnóstico não traumático que demonstrou uma maior sensibilidade, tanto nas consultas de diagnóstico (82,6%) da população inicial como na primeira consulta de seguimento (90%). Embora tenha sido superada pelas raspagens cutâneas profundas em ambos os casos, este é um método considerado traumático pois, devido ao seu procedimento, que deve ser realizado até surgir sangue capilar, provoca dor, hemorragias ligeiras, cicatrizes inestéticas e desconforto psicológico ao proprietário (Bensignor, 2003). Assim sendo, pode ser necessário efectuar uma forte contenção do animal ou mesmo sedá-lo em casos extremos, nomeadamente em cães menos cooperantes ou agressivos (Beco *et al.*, 2007; Bensignor, 2003). Por outro lado, no caso da técnica

NIVEA®, basta colocar as bandas sobre a pele após, tal como nas raspagens, apertar a prega de pele para provocar a extrusão folicular. Contudo, este método também apresenta alguns inconvenientes, como o tempo de espera que é necessário para as bandas secarem e assim ficarem coladas à pele. Nos cães mais agitados foi necessário algum cuidado para evitar que, com o movimento, a banda se descolasse. Nalguns destes cães foi colocado adesivo por cima, no entanto, isto não permitia que a banda secasse totalmente, pelo que se aconselha prolongar o tempo de espera nestes casos.

As raspagens cutâneas profundas apresentam ainda uma outra desvantagem. Os locais como os espaços interdigitais, as zonas perioculares, perinasais e comissuras labiais são difíceis de raspar, pelo que muitas vezes se torna necessário recorrer a outro método de diagnóstico. Tradicionalmente o tricograma é o método indicado nestes casos (Bensignor, 2003; Hill, 2002). Este é um método simples de realizar, bem aceite pelo cão e pelo proprietário (Bensignor, 2003), que apresenta a vantagem de não ser necessário comprimir a prega de pele. No entanto, como confirmado por este estudo, existem técnicas mais recentes, mais sensíveis e menos dolorosas (apesar de requererem a compressão da prega de pele) que podem ser utilizadas. A sensibilidade do tricograma varia consoante o clínico (Beco *et al.*, 2007), sendo de 85% segundo Saridomichelakis *et al.* (2007) e 40% segundo Bensignor (2003). De acordo com o presente estudo, o tricograma foi o método que obteve uma menor sensibilidade (73,9%) nas consultas de diagnóstico, pelo que poderá ser útil substituí-lo pelo método das bandas NIVEA® ou, nalguns casos, pela fita adesiva.

Apesar da sensibilidade do método da fita adesiva ter sido maior do que a do tricograma na consulta de diagnóstico (78,3%), esta foi a técnica que apresentou uma menor sensibilidade na consulta de seguimento (70%) e a que contabilizou um menor número de parasitas nas contagens realizadas no momento de diagnóstico, pelo que a sua superioridade em relação ao tricograma é questionável. Deste modo, o método das bandas NIVEA® considera-se mais uma vez como a melhor alternativa não traumática para o diagnóstico de DC. Nos estudos de Pereira *et al.* (2012) e Cury *et al.* (2013), a técnica da fita adesiva revelou uma sensibilidade de 100% e 75%, respectivamente, não sendo estudada a sua sensibilidade após o início do tratamento. Apresenta a vantagem de ser provavelmente o método mais rápido.

Segundo Pereira *et al.* (2012), a visualização de parasitas ao microscópio foi mais fácil com técnica da fita adesiva pois não foram recolhidos tantos detritos celulares como na raspagem profunda. Contudo, pela experiência neste estudo, nem sempre os ácaros foram mais fáceis de identificar nesta técnica, possivelmente devido à interferência da própria fita que comprime os ácaros (Figura 11a), sendo mesmo este um dos métodos que contabilizou menos ácaros. Na visualização de amostras obtidas pelo método das bandas NIVEA®, como o produto obtido era raspado da banda para a lâmina de vidro, foram observados ao

microscópio detritos correspondentes ao material da banda. Isto pode ser minimizado se o conteúdo for raspado sem rasgar a banda. Notou-se ainda a fragmentação de alguns ácaros *Demodex* possivelmente devido também à raspagem do material para a lâmina de microscópio. Contudo, estas particularidades não foram suficientes para impedir uma boa visualização do produto ao microscópio (Figura 11b). Dependendo dos casos, a visualização do produto obtido pelas raspagens profundas recolheu também alguns detritos (Figura 11c), sendo possivelmente o tricograma o método que apresentou menos detritos (Figura 11d). Apesar de o método das bandas NIVEA® ter demonstrado bons resultados, este estudo está de acordo com a definição das raspagens cutâneas profundas como o método de diagnóstico de eleição para a DC (Mueller *et al.*, 2012), uma vez que estas revelaram uma sensibilidade sempre superior aos restantes métodos: 91,3% nas consultas de diagnóstico e 100% na primeira consulta de seguimento.

5. Conclusão e perspectivas futuras

Conclui-se que o novo método testado neste estudo, que utiliza as bandas NIVEA® para a recolha de amostras, pode ser recomendado como um método viável para o diagnóstico e para monitorização da DC, sendo mesmo o método atraumático que apresentou melhores resultados. Tanto na consulta de diagnóstico da população inicial como na primeira consulta de seguimento, esta técnica demonstrou uma sensibilidade relativa mais elevada do que dois dos métodos já utilizados, o tricograma e a técnica da fita adesiva, mantendo-se, no entanto, as raspagens cutâneas profundas como o método de diagnóstico e de monitorização mais sensível. Porém, uma vez que as raspagens cutâneas profundas são traumáticas e daí advêm várias desvantagens, considera-se que as bandas NIVEA® são realmente um método a considerar dadas as suas vantagens a esse nível e a sua capacidade para detectar cães positivos para DC em comparação com os restantes métodos não traumáticos, o tricograma e a fita adesiva. Relativamente às contagens de ácaros, a técnica NIVEA® superou os restantes métodos no número de adultos contabilizados na consulta de diagnóstico, embora tenha sido superada por todos os outros na primeira consulta de seguimento, colocando-se a hipótese de que o tratamento possa interferir de alguma forma com factores intrínsecos ao folículo piloso ou à própria banda NIVEA®, embora estes não tenham interferido com a sua sensibilidade. Mais estudos são necessários para avaliar esta técnica após o início da terapêutica.

Este estudo clínico, tendo um tempo de realização limitado e estando dependente da casuística e disponibilidade dos proprietários, apresentou algumas limitações, nomeadamente no número de animais abrangidos (n=12), principalmente na vertente relacionada com o estudo após o início da terapêutica (n=5), pelo que estudos adicionais, que englobem uma população mais numerosa assim como um seguimento após o início do

tratamento mais longo, são bem-vindos para melhor estudar esta nova técnica que pode vir a trazer benefícios para o diagnóstico de DC.

Futuramente, uma adaptação das bandas NIVEA® de modo a tornar a sua secagem mais rápida e/ou aderência maiores, assim como tornar a sua cor transparente em vez de branca para que possa ser vista directamente ao microscópio óptico, são ideias para aperfeiçoar este método. Para além disso, seria interessante a visualização das bandas NIVEA® directamente com uma lupa em ampliação a testar, pois este seria um modo mais rápido e no qual não seria necessário raspar o conteúdo da banda para uma lâmina de bisturi, o que, inevitavelmente, acaba por levar à perda de algum material mais aderente. Também a dissolução das bandas de alguma forma, seguida de centrifugação da solução obtida, poderia tornar mais fácil a obtenção do material recolhido aderente à banda.

IV. Bibliografia

- Apifarma. (2014). Simposium Veterinário Apifarma. Lisboa: Apifarma. Acedido em Agosto 31, 2014, disponível em: <http://www.apifarma.pt/simposiumvet/Paginas/Pesquisaavancada.aspx>
- Barbet, J. L., Snook, T., Gay, J. M., & Mealey, K. L. (2009). ABCB1-1 Delta (MDR1-1 Delta) genotype is associated with adverse reactions in dogs treated with milbemycin oxime for generalized demodicosis. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 111–114.
- Barriga, O. O., Al-Khalidi, N. W., Martin, S., & Wyman, M. (1992). Evidence of immunosuppression by *Demodex canis* [Abstract]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 32(1-2), 37–46.
- Barta, O., Waltman, C., Oyekan, P. P., McGrath, R. K., & Hribernik, T. N. (1983). Lymphocyte transformation suppression caused by pyoderma - failure to demonstrate it in uncomplicated demodectic mange [Abstract]. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 6(1), 9–18.
- Beco, L., Fontaine, F., Bergvall, K., & Favrot, C. (2007). Comparison of skin scrapes and hair plucks for detecting *Demodex* mites in canine demodicosis, a multicentre, prospective study [Abstract]. *Veterinary Dermatology*, 18, 381.
- Bensignor, E. (2003). Comparaison de trois techniques diagnostiques de démodécie à *Demodex canis* chez le chien. *Pratique Médicale and Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 38, 167–171.
- Bissonnette, S., Paradis, M., Daneau, I., & Silversides, D. W. (2009). The ABCB1-1Delta mutation is not responsible for subchronic neurotoxicity seen in dogs of non-collie breeds following macrocyclic lactone treatment for generalized demodicosis. *Veterinary Dermatology*, 20(1), 60–66.
- Bourdeau, P. J. (2010). Variation of size in *Demodex canis*: from the shortest to the longest forms. *Veterinary Dermatology*, 21(2), 213–218.
- Bussi  ras, J., & Chermette, R. (1991). *Abr  g   de Parasitologie V  t  rinaire: Fascicule IV. Entomologie v  t  rinaire*. Paris:   cole Nationale V  t  rinaire, Service de Parasitologie.
- Calier. (2006). *Infermun na demodecose canina*. Acedido em Agosto, 27, 2014, disponível em: http://www.calier.pt/docsContent/infermun_na_demodecose_canina.pdf
- Caswell, J. L., Yager, J. A., Parker, W. M., & Moore, P. F. (1997). A Prospective Study of the Immunophenotype and Temporal Changes in the Histologic Lesions of Canine Demodicosis. *Veterinary Pathology*, 34(4), 279–287.
- Chee, J. H., Kwon, J. K., Cho, H. S., Cho, K. O., Lee, Y. J., Abd El-Aty, a M., Abdel-Aty, a M., et al. (2008). A survey of ectoparasite infestations in stray dogs of Gwang-ju City, Republic of Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 46(1), 23–27.
- Chen, C., Hou, C. C., & Bourdeau, P. J. (2002). Easy way to differentiate short-tailed demodectic mite from *Demodex canis*. *Veterinary Dermatology*, 13(4), 211–229.

- Chesney, C. J. (1999). Short form of *Demodex* species mite in the dog: occurrence and measurements. *The Journal of Small Animal Practice*, 40(2), 58–61.
- Corbett, R., Banks, K., Hinrichs, D., & Bell, T. (1975). Cellular immune responsiveness in dogs with demodectic mange. *Transplantation Proceedings*, 7(4), 557–559.
- Corrales, G. M., Vázquez, F. A., & Campillo, M. C. (1999). Demodicosis canina. Demodicosis del gato. Sarcoptosis del perro. Notoedrosis del gato. Queiletiolosis y Otodectosis del perro y del gato. *Parasitología Veterinaria* (pp. 702–706). Madrid: McGraw-Hill-Interamericana.
- Craig, M. (2003). *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology* (2nd ed.). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Cury, G. M. M., Pereira, S. T., Botoni, L. S., Pereira, R. D. de O., Telles, T. da C., Ferreira, A. P., & Costa-val, A. P. (2013). Diagnosis of canine demodicosis : comparative study between hair plucking and adhesive tape tests. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, 20(3), 137–139.
- Das, S. (1993). Efficacy of Pestoban aerosol spray in treatment of canine demodicosis [Abstract]. *Journal of Veterinary Parasitology*, 7(1), 67–69.
- Day, M. J. (1997). An immunohistochemical study of the lesions of demodicosis in the dog. *Journal of Comparative Pathology*, 116(2), 203–216.
- Desch, C., & Hillier, A. (2003). *Demodex injai*: a new species of hair follicle mite (Acari: Demodicidae) from the domestic dog (Canidae). *Journal of Medical Entomology*, 40(2), 146–149.
- Dohoo, I., Martin, W., & Stryhn, H. (2003). *Veterinary Epidemiological Research* (pp. 91–98). Canada: AVC Inc.
- ESCCAP. (2012). Control of Ectoparasites in Dogs and Cats. *European Scientific Counsel Companion Animal Parasites Guideline 3* (2nd ed., pp. 20–22). UK.
- Fisher, M. a, & Shanks, D. J. (2008). A review of the off-label use of selamectin (Stronghold/Revolution) in dogs and cats. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50(46).
- Fondati, A., De Lucia, M., Furiani, N., Monaco, M., Ordeix, L., & Scarpella, F. (2009). Prevalence of *Demodex canis*-positive healthy dogs at trichoscopic examination. *Veterinary Dermatology*, 21(2), 146–151.
- Foreyt, W. J. (2001). *Veterinary Parasitology Reference Manual* (5th ed.). Iowa: Blackwell Publishing.
- Fourie, J., Delport, P., Fourie, L., Heine, J., Horak, I., & Krieger, K. (2009). Comparative efficacy and safety of two treatment regimens with a topically applied combination of imidacloprid and moxidectin (Advocate) against generalised demodicosis in dogs. *Parasitology Research*, 105, S115–124.
- Fourie, J., Dumont, P., Halos, L., Beugnet, F., & Pollmeier, M. (2013). Efficacy of a topical application of Certifect® (fipronil 6.26% w/v, amitraz 7.48% w/v, (S)-methoprene 5.63% w/v) for the treatment of canine generalized demodicosis. *Parasite*, 20(46).

- Fourie, J., & Heine, J. (2005). Evaluation of the efficacy of Advocate (Moxidectin 2.5% and Imidacloprid 10%) spot-on against *Demodex* spp. mites on dogs with generalized demodicosis. *Proceedings of the 6th International Ectoparasite Control Symposium, BSAVA Congress* (pp. 32–36). Birmingham, UK.
- Fourie, J., Kok, D. J., du Plessis, A., & Rugg, D. (2007). Efficacy of a novel formulation of metaflumizone plus amitraz for the treatment of demodectic mange in dogs. *Veterinary Parasitology*, 150(3), 268–274.
- Geyer, J., Döring, B., Godoy, J. R., Leidolf, R., Moritz, A., & Petzinger, E. (2005). Frequency of the nt230 (del4) MDR1 mutation in Collies and related dog breeds in Germany. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 28(6), 545–551.
- Geyer, J., Klintzsch, S., Meerkamp, K., Wohlke, A., Distl, O., Moritz, A., & Petzinger, E. (2007). Detection of the nt230 (del4) MDR1 mutation in White Swiss Shepherd dogs : case reports of doramectin toxicosis, breed predisposition, and microsatellite analysis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30(5), 482–485.
- Ghubash, R. (2006). Parasitic miticidal therapy. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 21(3), 135–144.
- Gortel, K. (2006). Update on canine demodicosis. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 36(1), 229–241.
- Gramer, I., Leidolf, R., Döring, B., Klintzsch, S., Krämer, E.-M., Yalcin, E., Petzinger, E., et al. (2011). Breed distribution of the nt230(del4) MDR1 mutation in dogs. *The Veterinary Journal*, 189(1), 67–71.
- Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J., & Affolter, V. K. (2005). *Skin Diseases of the Dog and Cat - Clinical and Histopathological Diagnosis* (2nd ed.). Oxford: Blackwell Publishing.
- Hall, J. A., & Keirstead, N. (2005). Diagnostic Dermatology. *The Canadian Veterinary Journal*, 46, 949–952.
- Healey, M. C., & Gaafar, S. M. (1977). Immunodeficiency in canine demodectic mange II. Skin reactions to phytohemagglutinin and concanavalin A [Abstract]. *Veterinary Parasitology*, 3(2), 133–140.
- Heine, J., Krieger, K., Dumont, P., & Hellmann, K. (2005). Evaluation of the efficacy and safety of imidacloprid 10% plus moxidectin 2.5% spot-on in the treatment of generalized demodicosis in dogs: results of a European field study. *Parasitology Research*, 97, S89–96.
- Hill, P. B. (2002). *Small Animal Dermatology - A practical guide to the diagnosis and management of skin diseases in dogs and cats*. London: Butterworth-Heinemann.
- Hillier, A., & Desch, C. (2002). Large-bodied *Demodex* mite infestation in four dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220, 623–627.
- Hirsh, D. C., Baker, B. B., Wiger, N., Yaskulski, S. G., & Osburn, B. I. (1975). Suppression of in vitro lymphocyte transformation by serum from dogs with generalized demodicosis [Abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 36(11), 1591–1595.

- Holm, B. R. (2003). Efficacy of milbemycin oxime in the treatment of canine generalized demodicosis: a retrospective study of 99 dogs (1995-2000). *Veterinary Dermatology*, 14(4), 189–195.
- Huang, H.-P., & Lien, Y.-H. (2013). Treatment of canine generalized demodicosis associated with hyperadrenocorticism with spot-on moxidectin and imidacloprid. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55(1), 40.
- Hugnet, C., Bentjen, S. a, & Mealey, K. L. (2004). Frequency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensitivity in a sample of collies from France. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27(4), 227–229.
- Hugnet, C., Bruchon-Hugnet, C., Royer, H., & Bourdoiseau, G. (2001). Efficacy of 1.25% amitraz solution in the treatment of generalized demodicosis (eight cases) and sarcoptic mange (five cases) in dogs. *Veterinary Dermatology*, 12(2), 89–92.
- Huisinga, M., Failing, K., & Reinacher, M. (2007). MHC class II expression by follicular keratinocytes in canine demodicosis--an immunohistochemical study. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 118(3-4), 210–220.
- Ihrke, P. J. (2005). Canine and Feline Demodicosis. *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference* (pp. 279–280). Orlando, Florida.
- Ihrke, P. J. (2009). Demodicosis: What we know in both the dog & the cat. *Proceedings of the LAVC Latin American Veterinary Conference* (pp. 62–67). Lima, Peru.
- Johnstone, I. (2002). Doramectin as a treatment for canine and feline demodicosis. *Australian Veterinary Practitioner*, 32(3), 98–103.
- Kamboj, D. S., Singh, K. B., Singh, A., Mohan, R., & Nauriyal, D. C. (1993). Studies on the therapeutic efficacy of amitraz, deltamethrin and ivermectin on canine demodicosis. *Indian Veterinary Journal*, 70(1), 61–64.
- Koch, S. N., Torres, S. M., & Plumb, D. C. (2012). *Canine and Feline Dermatology Drug Handbook*. Iowa: Wiley-Blackwell.
- Kuznetsova, E., Bettenay, S., Nikolaeva, L., Majzoub, M., & Mueller, R. (2012). Influence of systemic antibiotics on the treatment of dogs with generalized demodicosis. *Veterinary Parasitology*, 188(1-2), 148–155.
- Leitão, J. P. A., & Leitão, J. P. A. (2008). Demodicose canina. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 103(567-568), 135–149.
- Lemarié, S. L., & Horohov, D. W. (1996). Evaluation of interleukin-2 production and interleukin-2 receptor expression in dogs with generalized demodicosis. *Veterinary Dermatology*, (7), 213–219.
- López, R. J., Reyero, D. R., & Baños, D. N. (2011). First report of canine demodicosis by short-bodied Demodex Mite (Acari: Demodecidae) in Spain. *Revista Ibero-Latinamericana Parasitología*, 70(2), 219–224.
- Losson, B., & Benakhla, A. (1980). Efficacité du Closantel dans le traitement de la gale demodectique du chien. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 124(7), 521–526.

- Madeira de Carvalho, L. M. (2000). *Notas de Apoio às Aulas Práticas de Parasitologia* (p. 131). Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L. M. (2000). Colheita de material e diagnóstico laboratorial das ectoparasitoses dos pequenos animais. *Medicina Veterinária*, 52, 5–13.
- Madeira de Carvalho, L. M., Pereira da Fonseca, I., Rosário, M. A. R., Soares, M. J. A., Gomes, L. M. N., Meireles, J. A. F. e S., & Fazendeiro, M. I. (2005). Dermatoses parasitárias em pequenos animais. Casuística de 1999-2004 do Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV. *XXIX Jornadas Médico-Veterinárias da AEFMV – Oncologia, Dermatologia e Oftalmologia em Pequenos Animais. Livro de Comunicações*. (pp. 58–59). Lisboa.
- Madeira de Carvalho, L. M., & Santos, C. A. (2006). Diagnóstico de Dermatoses Parasitárias em Animais de Companhia. *Veterinária Técnica*, 3(9), 28–48.
- Martínez-Subiela, S., Bernal, L. J., Tvarijonaviciute, A., Garcia-Martinez, J. D., Tecles, F., & Cerón, J. J. (2014). Canine demodicosis: the relationship between response to treatment of generalised disease and markers for inflammation and oxidative status. *Veterinary Dermatology*, 25(2), 72–e24.
- Mealey, K. L., Bentjen, S. A., Gay, J. M., & Cantor, G. H. (2001). Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene. *Pharmacogenetics*, 11(8), 727–733.
- Mealey, K. L., Bentjen, S. A., & Waiting, D. K. (2002). Frequency of the mutant MDR1 allele associated with ivermectin sensitivity in a sample population of collies from the northwestern United States. *American Journal of Veterinary Research*, 63(4), 479–481.
- Mealey, K. L., Munyard, K. a, & Bentjen, S. a. (2005). Frequency of the mutant MDR1 allele associated with multidrug sensitivity in a sample of herding breed dogs living in Australia. *Veterinary Parasitology*, 131(3-4), 193–196.
- Medleau, L., & Hnilica, K. A. (2006). *Small Animal Dermatology A Color Atlas and Therapeutic Guide* (2nd ed.). Missouri: Saunders Elsevier.
- Medleau, L., & Willemse, T. (1995). Efficacy of daily amitraz therapy for refractory, generalized demodicosis in dogs: two independent studies. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 31(3), 246–249.
- Meireles, J. A. (1984). *Demodexose Canina*. Relatório da Aula Teórico-Prática. Provas de Aptidão Pedagógica e capacidade Científica. Escola Superior de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Miller, W. H. (1995). *Kirk's Current Veterinary Therapy XII Smal Animal Practice* (12th ed.). USA: W.B. Saunders Company.
- Miller, W. H., Griffin, C. E., & Campbell, K. L. (2013). *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* (7th ed.). St Louis: Elsevier Mosby.
- Milosevic, M. A., Frank, L. A., Brahmbhatt, R. A., & Kania, S. A. (2013). PCR amplification and DNA sequencing of *Demodex injai* from otic secretions of a dog. *Veterinary Dermatology*, 24(2), 286–e66.

- Mota, T. E. B. (2010). *Demodecose Canina - Aspectos da sua Abordagem Terapêutica*. Dissertação de MIMIV. FMV-UTL.
- Mota, T.E.B., Machado, L.H., Madeira de Carvalho, L.M. (2010) - Demodecose Canina – Aspectos da sua Abordagem Terapêutica. XIV Congresso Português de Parasitologia, FC/UP, Porto, 8 a 10 de Setembro de 2010. *Acta Parasitológica Portuguesa*, vol. 17 (2), 135. (Poster P-69).
- Mueller, R. S. (2004). Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Veterinary Dermatology*, 15(2), 75–89.
- Mueller, R. S. (2005). Canine Demodicosis – Diagnosis and Treatment. 50° Congresso Nazionale Multisala SCIVAC. Rimini, Italia.
- Mueller, R. S. (2008). Demodex canis Control in Dogs. *Proceedings of the 33rd World Small Animal Veterinary Congress* (pp. 150–152). Dublin, Ireland.
- Mueller, R. S., Bensignor, E., Ferrer, L., Holm, B., Lemarie, S., Paradis, M., & Shipstone, M. a. (2012). Treatment of demodicosis in dogs: 2011 clinical practice guidelines. *Veterinary Dermatology*, 23(2), 86–96.
- Mueller, R. S., & Bettenay, S. (1999). An unusual presentation of canine demodicosis caused by a long-bodied Demodex mite in a Lakeland Terrier. *Australian Veterinary Practitioner*, 29, 128–131.
- Mueller, R. S., Meyer, D., Bensignor, E., & Sauter-Louis, C. (2009). Treatment of canine generalized demodicosis with a “spot-on” formulation containing 10% moxidectin and 2.5% imidacloprid (Advocate, Bayer Healthcare). *Veterinary Dermatology*, 20(5-6), 441–446.
- Murayama, N., Shibata, K., & Nagata, M. (2010). Efficacy of weekly oral doramectin treatment in canine demodicosis [Abstract]. *Veterinary Record*, 167(2), 63–64.
- Nayak, D., Tripathy, S., Dey, P., Biswal, S., & Parida, G. (1998). Therapeutic efficacy of some homeopathic preparations against experimentally produced demodicosis in canines [Abstract]. *Indian Veterinary Journal*, 75(4), 342–344.
- Neff, M. W., Robertson, K. R., Wong, A. K., Safra, N., Broman, K. W., Slatkin, M., Mealey, K. L., et al. (2004). Breed distribution and history of canine mdr1-1Delta, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (pp. 11725–11730). USA.
- Nesbitt, G. H., & Ackerman, L. J. (1998). *Canine and Feline Dermatology - Diagnosis and Treatment*. New Jersey: Veterinary Learning Systems.
- Noli, C. (2011). Demodicosis in dogs and cats: how to diagnose and treat it successfully. *Proceedings of the 36th World Small Animal Veterinary Congress* (pp. 305–308). Jeju, Korea.
- Nuttall, T., Harvey, R. G., & McKeever, P. J. (2009). *A Colour Handbook of Skin Diseases of the dog and cat* (2nd ed.). London: Mason Publishing.

- Oberkirchner, U., Linder, K. E., Dunston, S., Bizikova, P., & Olivry, T. (2011). Metaflumizone-amitraz (Promeris)-associated pustular acantholytic dermatitis in 22 dogs: evidence suggests contact drug-triggered pemphigus foliaceus. *Veterinary Dermatology*, 22(5), 436–448.
- Ordeix, L., Bardagí, M., Scarampella, F., Ferrer, L., & Fondati, A. (2009). Demodex injai infestation and dorsal greasy skin and hair in eight wirehaired fox terrier dogs. *Veterinary Dermatology*, 20(4), 267–272.
- Paradis, M., & Pagé, N. (1998). Topical (pour-on) ivermectin in the treatment of chronic generalized demodicosis in dogs. *Veterinary Dermatology*, (9), 55–59.
- Paterson, T. E., Halliwell, R. E., Fields, P. J., Louw, M. L., Louw, J. P., Ball, G. S., Pinckney, R. D., et al. (2009). Treatment of canine-generalized demodicosis: a blind, randomized clinical trial comparing the efficacy of Advocate(Bayer Animal Health) with ivermectin. *Veterinary Dermatology*, 20(5-6), 447–455.
- Paul, A. J., Hutchens, D. E., Firkins, L. D., & Borgstrom, M. (2004). Dermal safety study with imidacloprid/moxidectin topical solution in the ivermectin-sensitive collie. *Veterinary Parasitology*, 121(3-4), 285–291.
- Paul, A. J., Tranquilli, W. J., & Hutchens, D. E. (2000). Safety of moxidectin in avermectin-sensitive collies. *American Journal of Veterinary Research*, 61(5), 482–483.
- Pekmezci, D., Pekmezci, G., Guzel, M., Cenesiz, S., Gurler, A., & Gokalp, G. (2014). Efficacy of amitraz plus inactivated parapoxvirus ovis in the treatment of canine generalised demodicosis. *The Veterinary Record*, 174(22), 556.
- Pereira, A. V, Pereira, S. A., Gremião, I. D., Campos, M. P., & Ferreira, A. M. (2012). Comparison of acetate tape impression with squeezing versus skin scraping for the diagnosis of canine demodicosis. *Australian Veterinary Journal*, 90(11), 448–450.
- Plant, J. D., Lund, E. M., & Yang, M. (2011). A case-control study of the risk factors for canine juvenile-onset generalized demodicosis in the USA. *Veterinary Dermatology*, 22(1), 95–99.
- Plumb, D. (2008). *Veterinary Drug Handbook* (6th ed.). Iowa: Blackwell Publishing.
- Ramsey, I. (2011). *BSAVA Small Animal Formulary* (7th ed.). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Ravera, I., Altet, L., Francino, O., Bardagí, M., Sánchez, A., & Ferrer, L. (2011). Development of a real-time PCR to detect *Demodex canis* DNA in different tissue samples. *Parasitology Research*, 108(2), 305–308.
- Ravera, I., Altet, L., Francino, O., Sánchez, A., Roldán, W., Villanueva, S., Bardagí, M., et al. (2013). Small *Demodex* populations colonize most parts of the skin of healthy dogs. *Veterinary Dermatology*, 24(1), 168–e37.
- Rhodes, K. H., & Werner, A. H. (2011). *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult Clinical Companion Small Animal Dermatology* (2nd ed.). West Sussex: Blackwell Publishing.

- Ristic, Z., Medleau, L., Paradis, M., & White-Weithers, N. E. (1995). Ivermectin for treatment of generalized demodicosis in dogs [Abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207(10), 1308–1310.
- Robson, D., Burton, G., Bassett, R., Shipstone, M., & Mueller, R. (2003). Eight cases of demodicosis caused by a long-bodied *Demodex* species (1997-2002) [Abstract]. *Australian Veterinary Practitioner*, 32(2), 64–74.
- Rodriguez-Vivas, R. I., Ortega-Pacheco, A., Rosado-Aguilar, J. a., & Bolio, G. M. E. (2003). Factors affecting the prevalence of mange-mite infestations in stray dogs of Yucatán, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 115(1), 61–65.
- De Rojas, M., Riazco, C., Callejón, R., Guevara, D., & Cutillas, C. (2012). Molecular study on three morphotypes of *Demodex* mites (Acarina: Demodicidae) from dogs. *Parasitology Research*, 111(5), 2165–2172.
- Rosenkrantz, W. (2009). Efficacy of metaflumizone plus amitraz for the treatment of juvenile and adult onset demodicosis in dogs: pilot study of 24 dogs [Abstract]. *Veterinary Dermatology*, 20, 227.
- Saridomichelakis, M., Koutinas, A., Farmaki, R., Leontides, L., & Kasabalis, D. (2007). Relative sensitivity of hair pluckings and exudate microscopy for the diagnosis of canine demodicosis. *Veterinary Dermatology*, 18(2), 138–141.
- Saridomichelakis, M., Koutinas, A., Papadogiannakis, E., Papazachariadou, M., Liapi, M., & Trakas, D. (1999). Adult-onset demodicosis in two dogs due to *Demodex canis* and a short-tailed demodectic mite. *The Journal of Small Animal Practice*, 40(11), 529–532.
- Sasaki, Y., Kitagawa, H., & Murase, S. (1990). Susceptibility of rough coated collies to milbemycin oxime [Abstract]. *Japanese Journal of Veterinary Science*, (52), 1269–1271.
- Sastre, N., Ravera, I., Villanueva, S., Altet, L., Bardagí, M., Sánchez, A., Francino, O., et al. (2012). Phylogenetic relationships in three species of canine *Demodex* mite based on partial sequences of mitochondrial 16S rDNA. *Veterinary Dermatology*, 23(6), 509–e101.
- Schnabl, B., Bettenay, S., Glos, N., Linek, M., Loewenstein, C., & Mueller, R. (2010). Oral selamectin in the treatment of canine generalised demodicosis [Abstract]. *Veterinary Record*, 166(23), 710–714.
- Schwassmann, M., Kunkle, G., Hepler, D., & Lewis, D. (1997). Use of lufenuron for treatment of generalized demodicosis in dogs. *Veterinary Dermatology*, 8(1), 11–18.
- Scott, D. W. (2012). Untreated generalized demodicosis in young dogs. *Veterinary Dermatology*, 23(2), 174–175.
- Scott, D. W., Farrow, B. R. H., & Schultz, R. D. (1974). Studies on the therapeutic and immunologic aspects of generalized demodectic mange in the dog. *Journal of American Animal Hospital Association*, 10, 233–244.

- Scott, D. W., Miller, W. H., & Griffin, C. E. (2001). *Mueller and Kirk's Small Animal Dermatology* (6th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Singh, S. K., & Dimri, U. (2014). The immuno-pathological conversions of canine demodicosis. *Veterinary Parasitology*, 203(1-2), 1–5.
- Singh, S. K., Kumar, M., Jadhav, R. K., & Saxena, S. K. (2011). An Update on Therapeutic Management of Canine Demodicosis. *Veterinary World*, 4(1), 41–44.
- Tamura, Y., Kawamura, Y., Inoue, I., & Ishino, S. (2001). Scanning electron microscopy description of a new species of *Demodex canis* spp. *Veterinary Dermatology*, 12(5), 275–278.
- Tani, K., Morimoto, M., Hayashi, T., Inokuma, H., Ohnishi, T., Hayashiya, S., Nomura, T., et al. (2002). Evaluation of cytokine messenger RNA expression in peripheral blood mononuclear cells from dogs with canine demodicosis. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 64(6), 513–518.
- Tarallo, V. D., Lia, R. P., Sasanelli, M., Cafarchia, C., & Otranto, D. (2009). Efficacy of Amitraz plus Metaflumizone for the treatment of canine demodicosis associated with *Malassezia pachydermatis*. *Parasites & Vectors*, 2(1), 13.
- Tranquilli, W., Paul, L., & Todd, K. (1991). Assessment of toxicosis induced by high-dose administration of milbemycin oxime in collies [Abstract]. *American Journal of Veterinary Research*, 52(7), 1170–1172.
- Verde, M. (2005). Canine Demodicosis: Treatment protocol. *Proceedings of the NAVC North American Veterinary Conference* (pp. 299–300). Orlando, Florida.
- Wall, R., & Shearer, D. (2001). *Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control* (2nd ed.). Oxford: Blackwell Science.
- Wilkie, B. N., Markham, R. J., & Hazlett, C. (1979). Deficient cutaneous response to PHA-P in healthy puppies from a kennel with a high prevalence of demodicosis. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 43(4), 415–419.

V. Anexos

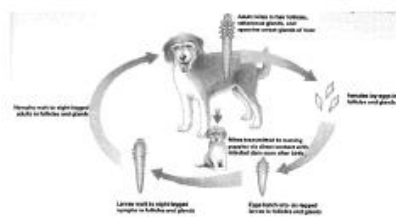
Anexo 1. Apresentação realizada pela autora nas sessões de estagiários durante o estágio curricular, “Novas abordagens de diagnóstico e terapêutica para a Demodicose Canina”.



Sabia que...

- ▶ Há novas formas de tratar a Demodicose..
- ▶ Há novas formas de a diagnosticar...e ainda queremos desenvolver mais uma...

Ciclo de vida



Raças Predispostas

- ▶ Shar-pei
- ▶ West Highland White Terriers
- ▶ Scottish Terriers
- ▶ Bulldogs
- ▶ Bull Terriers
- ▶ Weimaraners

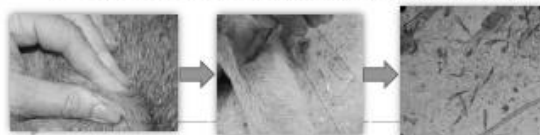


Apresentação Clínica

	Eritema, comedões, descamação, alopecia, pápulas, pústulas
	Face Membros
	Generalizada: linfadenopatia, febre, letargia, infecção bacteriana secundária
	Normalmente não pruriginosa (pode ser devido a infecção bacteriana secundária)

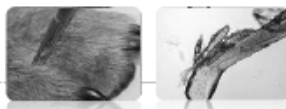
Diagnóstico – Raspagens Profundas

- ▶ Método de eleição (sensibilidade 100%)
- ▶ Se for encontrado um parasita, realizar mais raspagens
- ▶ Registrar número de ovos, larvas, ninfas e adultos para posterior comparação e avaliação da resposta ao tratamento



Diagnóstico - Tricograma

- ▶ Úteis em zonas difíceis de raspar como a **periocular** e **interdigital**
- ▶ Colher cerca de 50-100 pêlos, puxando na direcção de crescimento do pêlo e colocar numa lâmina com parafina
- ▶ Tricogramas negativos → raspagem profunda antes de excluir demodicose



Novos métodos de diagnóstico

- ▶ **Método da fita-cola** - Pereira et al (2012)
 - ▶ "tão sensível como as raspagens profundas"
 - ▶ Não traumático
 - ▶ Rápido, simples, barato
 - ▶ Útil em zonas difíceis de raspar e animais agressivos



- ▶ **Teste da tira Nívea** - Projecto de Mestrado

- ▶ Sensibilidade ?
- ▶ Não traumático, não doloroso



"Cusca"	Total
Raspagem zona 1	3
Raspagem zona 2	8
Fita-cola zona 1	1
Fita-cola zona 2	4
Tira nívea zona 1	8
Tira nívea zona 2	9
Tricograma zona 1	6
Tricograma zona 2	19

Amitraz

- ▶ Concentração recomendada: 0.025-0.06%
- ▶ Frequência: 1 vez por semana até a cada 2 semanas

- ▶ Mueller 2004 estudo retrospectivo
 - ▶ 65% do total de animais atingiu remissão

- ▶ Cortar pêlo se médio a longo
- ▶ No dia anterior tomar banho com antiséptico
- ▶ Aplicar com esponja e deixar secar sem enxaguar
- ▶ Não molhar entre banhos



- ▶ Aplicar em zonas ventiladas (raramente asma e dores de cabeça nos donos)

Diagnóstico - Biópsia de pele

- ▶ Raramente necessário
- ▶ Em certos locais (patas) e certas raças (Shar-peis)



Outros métodos de diagnóstico

- ▶ Exame directo do exsudado de pústulas
- ▶ Se linfadenopatia: observável nas punções de linfonodos



Terapêutica Etiológica

AMITRAZ			LACTONAS MACROCÍCLICAS	
Tópico			Ivermectina PO diário	Doramectina PO ou SC semanal
Taktic ®	Promaris duo ®	Certifect ®	Moxidectina PO ou Advocate ®	Milbemicina Oxima PO (Interceptor®)

Amitraz

- ▶ **Efeitos adversos**
 - ▶ depressão, sonolência, ataxia, polifagia, polidipsia, vômito e diarreia. Normalmente resolvem-se passadas 24-48h
- ▶ Para reverter - atipamezol (0.1mg/kg IM) ou ioimbina (0.1mg/kg PO)

- ▶ **Contra-indicado**

- ▶ Cadelas gestantes ou lactantes, cachorros com menos de 3 meses, Chihuahuas, cães diabéticos



Amitraz – Spot-on

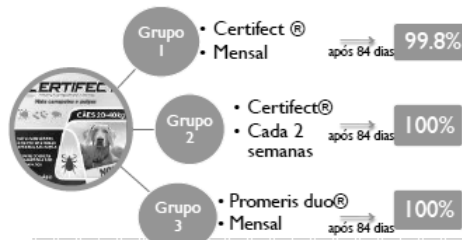


- ▶ **Promeris duo®** - 15% metaflumizona e 15% amitraz
 - ▶ 1 vez por mês até duas raspagens negativas
 - ▶ Cães > 8 semanas
- ▶ Fourie 2007 – tratamento mensal com 42.9% de eficácia e a quinzenal com 62.5% de eficácia
- ▶ Rosenkratz 2009 – tratamento quinzenal com 92,3% na demodicose juvenil e 45% em adultos, após 60 dias
- ▶ Reações adversas: letargia, vômito, diarreia (ingestão acidental), reações tipo pênfigus foliáceo

Amitraz – Spot-on



- ▶ **Certifect®** - fipronil, (S)-methoprene e amitraz
 - ▶ Fourie 2013 - eficaz mensalmente ou a cada 2 semanas, não foram observados efeitos adversos



Ivermectina



- ▶ 0.3-0.6 mg/kg/dia PO. Aumento gradual da dose
- ▶ Mueller 2004 em estudo retrospectivo
 - ▶ Em 120 animais, 68% atingiram a remissão
- ▶ Efeitos adversos: midriase, ataxia, vômitos, hipersialia, letargia, tremores, fraqueza, cegueira, depressão, coma e morte.
- ▶ Evitar em Rough Collies, Pastor-de-Shetland, Old English Sheepdogs, Pastor Australiano, Bobtail

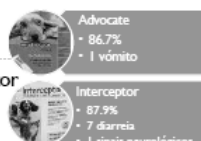
Dia	Dose (mg/kg)
1	0.05
2	0.1
3	0.15
4	0.2
5	0.3

Moxidectina

- ▶ 0.2-0.5 mg/kg/dia PO (aumento gradual)
- ▶ Sinais adversos semelhantes aos da ivermectina, mais frequentes
- ▶ Mais frequentes: vômito e inapetência
- ▶ Mueller (2004) (400 µg/kg/SID por via oral)
 - ▶ Em 41 com demodicose juvenil, 76% atingiram a remissão
 - ▶ Em 11 adultos, 81% atingiram a remissão
- ▶ Spot-on com 2.5% moxidectina e 10% imidacloprid (**Advocate®**) mais eficaz na demodicose juvenil e moderada, e ainda se dado semanalmente



Advocate®



- ▶ Heine 2005 – Advocate vs Interceptor
 - Advocate: 86.7%, 1 vômito
 - Interceptor: 87.9%, 7 diarreia, 1 sinais neurológicos
- ▶ Fourie 2009
 - Cada 28 dias (12 sem): 85.9%
 - Cada semana (15 sem): 97.4%
- ▶ Mueller 2009
 - Advocate a cada 2 semanas: 52 Juvenis, 20 Adultos
 - Em remissão após 12.5 semanas: 23 Juvenis, 3 Adultos
- ▶ Paterson 2009
 - Ivermectina vs Advocate mensal
 - Advocate quinzenal vs Advocate semanal

Advocate®



4.2 Indicações de utilização, especificando as espécies-alvo

Para cães sofrendo de, ou em risco de, infecções parasitárias mistas: Para tratamento e prevenção de infestações por pulgas (*Ctenocephalides felis*), tratamento de infestações por piolhos mastigadores (*Trichodectes canis*), tratamento de infestações por ácaros auriculares (*Otodectes cynotis*), sarna sarcoptica (causada por *Sarcoptes scabiei* var. *canis*), demodicose (causada por *Demodex canis*), prevenção de dirofilariose (larvas L3 e L4 de *Dirofilaria immitis*), tratamento de infecções por *Angiostrongylus vasorum* e tratamento de infecções por nemátodos gastrointestinais (larvas L4, adultos imaturos e adultos de *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum* e *Uncinaria stenocephala*, adultos de *Toxascaris leonina* e *Trichuris vulpis*). O medicamento veterinário pode ser administrado como parte de uma estratégia de tratamento da dermatite alérgica a pulgas (DAP).

Tratamento da demodicose (causada por *Demodex canis*)

Uma única dose administrada 2 a 4 vezes a intervalos de 4 semanas é eficaz contra *Demodex canis* e conduz a uma acentuada melhoria dos sinais clínicos. Como a demodicose é uma doença multifactorial, é também aconselhável, sempre que possível, tratar adequadamente qualquer doença subjacente.

Doramectina

- ▶ 0.6 mg/kg PO ou SC semanalmente
- ▶ Johnstone (2002)
 - ▶ 0.6mg/kg SC semanalmente
 - ▶ Em 17 animais, 14 (82%) ficaram curados ao fim de 8 semanas
 - ▶ Ao fim de 1 ano, 3 dos animais curados recidivaram pelo que foi implementado um 2º ciclo terapêutico
- ▶ Murayama (2010)
 - ▶ 0.6 mg/kg PO semanalmente
 - ▶ 2 animais não melhoraram pelo que se passou a 2 vezes por semana, no entanto, um desenvolveu ataxia



Milbemicina Oxima

- ▶ 0.5-2 mg/kg/dia PO
- ▶ Ampla margem de segurança, aparentemente bem tolerada por Colies
- ▶ Mueller (2004) doses baixas (0,5-1,5mg/kg/SID)
 - ▶ Em 175 com demodicose juvenil – 58% em remissão
 - ▶ Em 64 adultos – 55% em remissão
- ▶ Mueller (2004) doses elevadas (> 1,5mg/kg/SID)
 - ▶ Em 57 com demodicose juvenil – 67% em remissão
 - ▶ Em 14 adultos – 36% em remissão

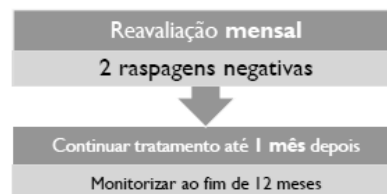
Interceptor ®

Tratamento de demodicose generalizada (causada por *Demodex canis*)
A dose recomendada é de 0,5-1,0 mg/kg por dia até se obterem duas raspagens negativas com um mês de intervalo.
Se se justificar pelo estado clínico e pela infestação de ácaros, pode-se duplicar a dose, i.e., 1-2 mg/kg de milbemicina oxima por kg de peso corporal, sempre administrado diariamente como uma toma única.

- ▶ Duração do tratamento: 8-26 semanas
- ▶ Efeitos secundários: GI, sonolência, ataxia



Monitorização



Exemplos de tratamento – Forma Localizada

- ▶ Caso 1 – alopecia, alguns comedões
 - ▶ Champôs antisépticos uma a duas vezes por semana
- ▶ Caso 2 – pápulas, pústulas, crostas
 - ▶ Possível infecção bacteriana secundária -> citologia
 - ▶ Champôs antisépticos uma a duas vezes por semana
 - ▶ Pode ser necessário AB oral caso se encontre um elevado número de bactérias e células inflamatórias

Exemplos de tratamento – Forma Generalizada

- ▶ Caso 1 – zonas multifocais de alopecia com descamação e eritematosas, alguns comedões
 - ▶ Antibacterianos tópicos e eventualmente AB oral
 - ▶ Acaricidas:
 - ▶ Moxidectina tópica (Advocate ®)
 - ▶ Amitraz (em banhos semanais/cada 2 semanas ou pipetas)
 - ▶ Milbemicina oxima (Interceptor ®) PO diariamente
 - ▶ Ivermectina ou moxidectina PO em doses crescentes
 - ▶ Doramectina semanal
 - ▶ Controlos mensais. Quando remissão clínica e microscópica -> continuar tratamento mais 4-8 semanas. Manter monitorização durante os 12 meses seguintes.

Exemplos de tratamento – Forma Generalizada

- ▶ **Caso 2 – pápulas, pústulas, crostas, exudado abundante nas zonas de alopecia; pododermatite exudativa; letargia e febre**
 - ▶ Antibioterapia. Pode ser necessário cultura e TSA. Realizar análises e considerar internar o animal para receber fluidos. Terapêutica antimicrobiana deve continuar 1-2 semanas após resolução da infecção.
 - ▶ Antibacterianos tópicos
 - ▶ Acaricidas:
 - ▶ Banhos de amitraz
 - ▶ Milbemicina oxima (Interceptor ®) em doses elevadas
 - ▶ Ivermectina ou moxidectina PO em doses crescentes
 - ▶ Doramectina semanal
 - ▶ Reavaliar animal semanalmente até resolução da febre e letargia.
 - ▶ Controlos mensais. Quando remissão clínica e microscópica -> continuar tratamento mais 4-8 semanas. Manter monitorização durante os 12 meses seguintes.

Bibliografia

- ▶ Foster, A.P., Folt, C.S. (2003). *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology* (2ª edição). Gloucester: BSAVA
- ▶ Fourie, J., Dumont, P., Heloz, L. et al. Efficacy of a topical application of Certifast® (Ivermectin 6.26% w/v, amitraz 7.48% w/v, Dimethicone 5.53% w/v) for the treatment of canine generalized demodicosis. *Parasite* 2013; 20:46
- ▶ Heine, L., Krieger, K., Dumont, P. & Helman, K. (2005). Evaluation of the efficacy and safety of imidacloprid (10% plus moxidectin 3.5% spot-on) in the treatment of generalized demodicosis in dogs: results of a European field study. *Parasitology Research*, 97, 69-76.
- ▶ Johnson, L. (2002). Doximecil as a treatment for canine and feline demodicosis (abstract). *Australian Veterinary Practitioner*, 32, 98-103.
- ▶ Karakurum, M. C., Ural, K., Cinal, C. C., Guzel, M., Handeoglu, A. E. & Borku, M. K. (2007). Evaluation of ivermectin boluses in the treatment of generalized canine demodicosis. *Revista de Medicina Veterinária*, 150(7), 380-383.
- ▶ Mota, T.E.V. (2010). *Demodicose canina – aspectos da sua abordagem terapêutica*. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária, Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa
- ▶ Mueller, R. (2004). Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Veterinary Dermatology* 15, 75-89.
- ▶ Mueller, R.S., Meyer, D., Benetzer, E. et al. Treatment of canine generalized demodicosis with a 'boost-on' formulation containing 10% moxidectin and 3.5% imidacloprid (Advocate, Bayer HealthCare). *Veterinary Dermatology* 2009; 20, 441-446.
- ▶ Mueller, R.S., Benetzer, E., Ferrer, L. et al. Treatment of demodicosis in dogs 2011 clinical practice guidelines. *Veterinary Dermatology* 2012; 23:88-92.
- ▶ Oberkirchner, U., Linder, K., Dunston, S. et al. Metaflumizone-amitraz (Promeris)-associated cuticular xanthohallic dermatitis in 22 dogs: evidence suggests contact drug-triggered xanthohallic folliculitis. *Veterinary Dermatology* 2011; 22, 439-448.
- ▶ Peterson, T., Halliwell, R., Lowe, M., Lowe, J., Ball, C. & Fields, P. (2009). Treatment of canine generalized demodicosis: a blind, randomized clinical trial comparing the efficacy of Advocate® (Bayer HealthCare AG) with ivermectin. *Veterinary Dermatology*, 19(1), 1-3.
- ▶ Rosenkrantz, W. Efficacy of metaflumizone plus amitraz for the treatment of juvenile and adult onset demodicosis in dogs: pilot study of 24 dogs. *Veterinary Dermatology* 2009; 20, 227 (Abstract).

Queridos colegas,
Por favor chamem-me quando
tiverem casos de Demodicose ☺
Obrigada



Anexo 2. Ficha do paciente (original da autora).

FICHA DO PACIENTE

Data: _____

Nome: _____ Sexo: ____ Idade: ____ Raça: _____ Peso: ____ kg
Proprietário: _____ Tel: _____

Já diagnosticado com demodicose: Sim ☐ Não ☐

Em tratamento: Sim ☐ Não ☐

Qual? _____

Caracterizar lesões e sua localização:

Lesões Primárias			
Bolha	Pápula	Pústula	Pápula Urticariforme
Mácula	Mancha	Tumor	
Nódulo	Placa	Vesícula	
Lesões Secundárias			
Abcesso	Quisto	Fissura	Descamação
Alopécia	Colarete	Hiperqueratose	Cicatriz
Calo	Erosão	Hiperpigmentação	Úlcera
Comedão	Eritema	Hipopigmentação	
Crosta	Escoriação	Liquenificação	

Prurido: Sim/ Não

Caracterização de demodicose:

- juvenil / adulto
 - se adulto, indicar causa subjacente: _____
- localizada/generalizada
- complicada/não complicada

Zonas seleccionadas para colheita de amostras:

Zona 1 –

Zona 2 –

Contagem de parasitas:

	Adultos	Ninfas	Larvas	Ovos	Total
Raspagem zona 1					
Raspagem zona 2					
Fita-cola zona 1					
Fita-cola zona 2					
Tira nívea zona 1					
Tira nívea zona 2					
Tricograma zona 1					
Tricograma zona 2					

Observações:

Anexo 3. Folheto informativo do produto *Clear-up Strips* da NIVEA®.



VISÃO GLOBAL

A Zona T (nariz, queixo e testa) é mais susceptível de ficar obstruída com impurezas, oleosidade, maquilhagem e pontos negros. Os Laboratórios NIVEA desenvolveram NIVEA Clear-Up Strips Purificantes, enriquecidos com Ácido Cítrico, para uma limpeza intensiva dos poros da Zona T.

NIVEA Clear-Up Strips Purificantes removem os pontos negros e limpam os poros em profundidade. As bandas adesivas contêm um ingrediente especial que, activado pela água, agarra as impurezas, desobstruindo os poros. Ao retirar a banda adesiva, as impurezas, a oleosidade, a maquilhagem e os pontos negros são removidos do interior dos poros.

Resultado: Os poros são desobstruídos e a pele fica com um aspecto mais uniforme, para um rosto mais fresco.

A nossa filosofia consiste no desenvolvimento de produtos que reflectam a grande eficácia e harmonia, que as investigações científicas propõem para a beleza interior e exterior da pele.

Compatibilidade com a pele comprovada dermatologicamente.

Recomendado a partir dos 18 anos.

COMO APLICAR

Utilize 1 a 2 vezes por semana, como parte da sua rotina de cuidado do rosto.

Conselhos de Utilização:

Depois de lavar o rosto, molhe completamente a zona onde vai aplicar a banda, com água abundante. A banda não adere à pele seca.

Com as mãos secas, retire a película transparente.

Aplique a banda, colocando a parte lisa em cima do nariz, queixo ou testa. Pressione uniformemente para garantir uma boa aderência à pele.

Deixe a banda secar 10 a 15 minutos, no máximo. Quando esta ficar rígida, então estará pronta para ser removida.

Retire-a devagar e cuidadosamente, começando pelos extremos, puxando para o centro da banda. Se a banda aderir demasiado, molhe-a completamente e retire-a de seguida.

Precauções:

Utilize apenas na zona T (nariz, queixo e testa) e não mais do que uma vez de 3 em 3 dias.

Não utilize na pele sensível a adesivos ou máscaras "peel-off", com acne, inflamações, inchaço, queimaduras solares, na pele excessivamente seca ou com propensão para veias superficiais (varizes).

O uso da banda pode causar um ligeiro ardor na pele. Esta sensação é normal.

Remova a banda, como previamente indicado, imediatamente após estar rígida. Se a sua remoção for difícil, molhe-a completamente e retire-a com cuidado. A remoção forçada da banda deve ser evitada, uma vez que pode causar irritação na pele. Se tal acontecer, deixe de usar.

Compatibilidade com a pele comprovada dermatologicamente.

Apenas para uma aplicação.

De seguida aplique o seu Creme de Dia ou de Noite NIVEA habitual.

Anexo 4. Caracterização do tipo de demodicose apresentada por cada animal e resultados obtidos para os quatro métodos de diagnóstico.

	Extensão	Idade	Gravidade	Resultado Raspagem profunda	Resultado NIVEA®	Resultado Tricograma	Resultado Fita adesiva
A1	G	J	C				
	Consulta diagnóstico			P P	P P	P P	P P
	1ª Consulta seguimento			P P	P P	N N	P P
	2ª Consulta seguimento			P P	N N	N N	P N
A2	G	J	NC				
	Consulta diagnóstico			N N	P N	N N	N N
A3	G	A	C				
	Consulta diagnóstico			P P	P P	P P	P P
	1ª Consulta seguimento			P P	P P	P P	P P
	2ª Consulta seguimento			P P	P P	P P	P P
	3ª Consulta seguimento			P P	N P	P P	P P
	4ª Consulta seguimento			P P	P P	P P	P P
A4	G	J	C				
	Consulta diagnóstico			P P	P P	P P	P P
A5	G	J	C				
	Consulta diagnóstico			P P	P P	P N	P P
	1ª Consulta seguimento			P P	P N	P P	N N
A6	L	J	NC				
	Consulta diagnóstico			P P	N P	N P	N P
A7	G	J	NC				
	Consulta diagnóstico			P P	N N	P P	P N
	1ª Consulta seguimento			P P	P P	P P	N P
A8	G	J	C				
	Consulta diagnóstico			P P	P P	P P	P P
	1ª Consulta seguimento			P P	P P	P P	P P
A9	G	J	NC				
	Consulta diagnóstico			P P	P P	N P	N P
A10	G	J	NC				
	Consulta diagnóstico			P P	P P	P P	P P
A11	G	A	C				
	Consulta diagnóstico			P P	P P	N P	P P
A12	L	J	NC				
	Consulta diagnóstico			P	P	P	P

Legenda: A – animal; G – generalizada; L – localizada; C – complicada; NC – não complicada; P – positivo; N – negativo; O sublinhado cor de laranja indica as amostras que foram eliminadas devido à análise estatística.